Lund Medical Library

B. Lindberger

UNDERSÖKNINGAR ÖVER ÄGGVITEFÄLLNING MED SYROR OCH SURA SALTLÖSNINGAR

Uppsala

Stockholm. P. A. Norstedt & Söner 1924

UNDERSÖKNINGAR ÖVER ÄGGVITEFÄLLNING MED SYROR OCH SURA SALTLÖSNINGAR

AKADEMISK AVHANDLING

som med tillstånd av

MEDICINSKA FAKULTETEN VID UPPSALA UNIVERSITET

för vinnande av medicine doktorsgrad offentligen försvaras å Fysiologiska Institutionens föreläsningssal lördagen den 17 januari 1925 kl. 10 f. m.

av

B. Lindberger

med. lic.

Stockholm

P. A. Norstedt & Söner

1924

STOCKHOLM 1924
KUNGL. BOKTRYCKERIET. P. A. NORSTEDT & SÖNER
243917

Genom en tillfällighet kom min uppmärksamhet att riktas på det sakförhållandet, att de enkla syror, som sedan gammalt använts som fällningsreagens på i lösning varande äggvitesubstanser, samfällt karakteriseras av s. k. lyofoba anioner. Detta syntes mig utgöra ett anmärkningsvärt motsatsförhållande till de s. k. neutralsalternas förhållande till proteinlösningar. Det som enligt modern uppfattning är bestämmande för graden av dessas äggvitefällande verkan är, som bekant, de ingående ionernas hydratationsbenägenhet. För själva mekanismen i denna neutralsaltverkan torde väl numera den uppfattningen vara allmänt vedertagen, att dessa föreningar utfälla äggviteämnena genom att så att säga lägga beslag på dessas lösnings- resp. hydratationsmedium. En parallellföreteelse alltså till äggvitelösningars fällande exempelvis med etylalkohol. Bildandet av en direkt förening emellan äggvitemolekylen och någon neutralsaltkomponent synes icke vara förutsättningen för proteiners utsaltning vid neutral reaktion. Detta postulat motsäges icke av den omständigheten, att den utfällda produkten efter omständigheterna mycket väl kan utgöras av ett proteinsalt. Vad som i detta sammanhang äger principiell betydelse är, att en saltbildning mellan proteinmolekylen och någon av det fällande neutralsaltets joner icke är någon förutsättning för äggviteämnenas utsaltning ur

neutrala resp. svagt alkaliska lösningar. Helt i samklang med min ovan anförda observation fann jag emellertid en av POSTERNAK först beskriven iakttagelse vara, nämligen att vid avsevärt sur reaktion hos mediet en omkastning sker beträffande anionernas äggvitefällande verkan, så att under dessa förhållanden denna blir större ju mera utpräglat lyofob den ifrågavarande anionen är. För detta anmärkningsvärda fenomen synes mig a priori den sannolika förklaringen vara, att den lyofoba anionen under dessa betingelser ingår som en konstitutiv beståndsdel i fällningsprodukten. Ty om hydrofila joners fällande verkan får anses bero på så att säga ett undanryckande av lösningsmedlet från den lösta proteinsubstansen, varvid givetvis saltet förbliver i den lösta fasen, så synes mig de lyofoba anionernas predominans som fällningsmedel vid sur reaktion endast kunna förklaras genom antagandet av desammas övergång i den vattenfattiga, alltså den utfällda fasen.

En granskning av den tillgängliga litteraturen på här ifrågavarande område har endast lämnat sparsamma bidrag till klarläggande av den ovan berörda frågeställningen. En sammanställning av MYLIUS över olika syrors relativa verkningsgrad som fällningsreagens för äggvita synes i huvudsak bekräfta antagandet av samband mellan den ingående anionens hydrofoba natur och motsvarande syras fällningsförmåga. Någon närmare undersökning av fällningsproduktens beskaffenhet har jag icke återfunnit vare sig hos denne författare eller i litteraturen i övrigt. MYLIUS uttalar visserligen en — dock icke verifierad — förmodan, att fällningsprodukten kan hava karaktären av ett äggvitesalt. I övrigt synes den uppfattningen vara rådande, att en irreversibel destruktiv verkan av det starkt reaktionsbenägna fällnings-

medlet är förutsättningen för syrefällningen av lösta äggviteämnen, och den fällda produkten har väl närmast ansetts äga karaktären av ett acidalbuminat.

ROBERTSON betonar i sin utförliga monografi över proteinernas fysikaliska kemi med eftertryck skillnaden mellan proteinlösningars *utflockning* (coagulation) genom vattenbindande medel, såsom alkohol, lyofila neutralsalter ävensom genom uppvärmning å ena sidan och å den andra deras *utfällning* (precipitation) medelst ämnen som helt eller delvis bindas vid äggvitesubstansen. På spörsmålet om enkla syrors fällande verkan på genuina äggviteämnen, ingår han emellertid icke.

Det har synts mig uppenbart, att här berörda fenomen ännu befinna sig i outrett skick. En analys av desamma med utgångspunkt från den djupare insikt beträffande äggviteämnenas fysikaliskt-kemiska egenskaper och särskilt i fråga om deras förhållande till enkla elektrolyter, som de senare årens rikt givande forskning medfört, borde möjliggöra ett klarläggande även av arten av de enkla syrornas äggvitefällande verkan. Otvivelaktigt borde också för en utredning av ifrågavarande problem intresse vara att påräkna ur såväl teoretisk som praktisk synpunkt.

När jag i det följande upptagit denna fråga till behandling, har jag redan från början begränsat min uppgift till ett studium av de enkla anioner, i fråga om vilka kunnat förutsättas, att deras fällande verkan på äggvitelösningar icke vore betingad av någon egenskap så att säga vid sidan av deras anionkaraktär. Samtliga s. k. alkaloidreagens ha därför lämnats åsido, likaledes anioner med aromatisk kärna med av denna betingade, specifika egenskaper. Icke heller bland övriga negativa radikaler har

någon fullständighet eftersträvats, utan har undersökningen avsetts att omfatta dels sådana föreningar, vars äggvitefällande egenskaper kommit till alldaglig praktisk användning, dels ock i övrigt sådana anioner, vars studium synts mig av vikt för en så vitt möjligt allsidig belysning av det uppställda problemet.

HISTORIK.

Den förste som föreslagit en enkel syra som fällningsreagens på äggvita var F. HELLER, som år 1852 offentliggjorde sina studier över salpetersyrans användbarhet som reagens på äggvita i urinen. Ifrågavarande metod för påvisande av äggvita är ju också alltjämt, åtminstone hos oss, det allmännast använda kliniska äggviteprovet och har med rätta burit sin auktors namn till eftervärlden. Metafosforsyrans brukbarhet i samma syfte påvisades år 1880 av engelsmannen GRIGG, och några år senare föreslogs av GROSSTERN och FUDAKOWSKY triklorättiksyra som fällningsmedel för äggviteämnen. Att en kombination av syra och neutralsalt kan giva upphov till känsliga fällningsmedel för äggvita var likaledes tidigt föremål för iakttagelse, men synas de därpå grundade reagensen numera knappast vara i praktiskt bruk. Så angav P. PANUM ättiksyra och natriumsulfat såsom fällningsmedel för äggvita. A. HEYNSIUS ävensom E. SALKOWSKI påvisade enahanda verkan hos blandningar av ättiksyra och koksalt. W. ROBERTS ägnade reagens av denna typ en närmare undersökning och föreslog användning av dels kombinationen saltsyra och koksalt 1882, dels ett par år senare magnesiumsulfat och salpetersyra. Av särskilt

intresse med hänsyn till här föreliggande undersökning synes mig vara, att C. ZOUCHLOS år 1890 föreslog användandet av rodankalium i kombination dels med ättiksyra och dels med bärnstenssyra som äggvitefällande medel. Den stora känsligheten hos dessa reagens har bekräftats av OLLENDORFF och SCHICK.

En systematisk undersökning över syrors förhållande till äggviteämnen föreligger så vitt jag kunnat finna endast från MYLIUS. Denne lämnade år 1903 en sammanställning över olika syrors förhållande till med vatten utspädd, nativ hönsäggvita. MYLIUS ansåg sig på grundval av sina undersökningar kunna indela syrorna i tre grupper med avseende på deras här berörda verkan. En första grupp till vilken han hänför ortofosforsyra, ortotellursyra, borsyra, oxalsyra, ättiksyra, myrsyra och benzoesyra anger han såsom icke äggvitefällande. I en andra grupp sammanför han bland andra platinaklorid-klorvätesyra, kvicksilver- och vismutjodidernas dubbelföreningar med jodväte, ferrocyanvätesyra, molybden- och wolframsyra ävensom motsvarande komplexa fosforsyreföreningar. Till denna grupp räknar han också metafosforsyra. Dessas gemensamma karakteristikum skulle vara att de redan i minimala koncentrationer verka fällande på äggvitelösningar. Som synes omfattar denna grupp i huvudsak komplexa föreningar av den art, som ävenledes utmärkas av sin fällande verkan på alkaloidlösningar, varför de också gemenligen bruka sammanföras under beteckningen alkaloidreagens.

En tredje grupp skulle enligt MYLIUS omfatta syror, som bilda en övergång mellan de båda i det föregående angivna extrema serierna. Då denna grupp innesluter flertalet av de syror, vars anioner utgöra föremål för här föreliggande

undersökning, återger jag MYLIUS' tabell över denna grupp, med angivande av minsta koncentrationen av ifrågavarande syror, som enligt denne författare vid 18° giver omedelbar fällning med lösning av hönsäggvita.

Salpetersyra	2 %	Jodvätesyra	3 %
Klorsyra	3 »	Fluorvätesyra	20 »
Bromsyra	20 »	Svavelsyra	20 »
Jodsyra	20 »	Selensyra	27 »
Klorvätesyra	8 »	Kromsyra	0,5 »
Bromvätesyra	3 »		

För bättre överskådlighet har jag omräknat de angivna koncentrationerna av de viktigare syrorna i denna grupp till normalitetsvärden och ordnat dem efter fallande verksamhetsgrad. Tabellen får då följande utseende:

HJ	0,25 n	HCl	2,3 n
HNO_3	0,33 »	H_2SeO_4	4,4 »
$HClO_3$	0,36 »	H_2SO_4	4,6 »
HBr	0,38 »	HF	10,7 »

Siffrorna gälla givetvis endast under de angivna reaktionsbetingelserna och kunna därför icke utan vidare jämföras med värden, som vunnits under andra förutsättningar. Vid försök att förklara den vitt skilda verkningsgraden hos de olika syrorna utgår MYLIUS från förhållandena i den grupp, som karakteriseras av den största verksamhetsgraden, alltså gruppen alkaloidreagens, och förmenar att dessas effektivitet direkt sammanhänger med deras komplexa byggnad. Beträffande den tredje här utförligare refererade gruppen söker han lämna stöd för den förmodan, att även dessas äggvitefällande verkan skulle gå hand i hand med förekomsten av komplexa molekyler i resp. syrelösningar. Gränskon-

centrationen för de olika syrornas äggvitefällande effekt skulle alltså beteckna den lägsta styrkegraden, vid vilken en sådan komplexbildning skulle äga rum. Författaren lämnar därvid helt å sido det förhållandet, att bland de i lägsta koncentration verksamma syrorna återfinnes salpetersyran, vilkens obenägenhet för komplexbildning ju är allmänt känd. Beträffande naturen av den av syrorna framkallade äggvitefällningen uttalar MYLIUS en förmodan att de skulle kunna utgöra en saltartad bindning mellan äggvitemolekylen och den fällande syran.

Den förste som påvisat denna äggviteämnens egenskap att kunna ingå saltartade föreningar med syror, (liksom även med baser) var som bekant J. SJÖQVIST. Genom påvisande av äggvitans modifierande verkan på ledningsförmågan av elektrolytlösningar av ifrågavarande art, kunde han redan 1894, alltså få år efter den elektrolytiska dissociationsteoriens uppställande, ådagalägga dennas tillämplighet och betydelse inom biokemien och speciellt äggvitekemien. Det fruktbara uppslaget har sedan dess flitigt bearbetats av ett stort antal forskare, och läran om äggviteämnenas karaktär av amfotera elektrolyter torde numera få räknas till de betydelsefullaste uppslagen inom den moderna biokemien. Stort värde för forskningen på detta område torde framför allt få tillmätas den av W. HARDY först framställda och av L. MICHAELIS närmare utvecklade läran om äggvitekropparnas isoelektriska punkt. Därmed betecknas som bekant den för varje proteinsubstans karakteristiska vätejonkoncentration, vid vilken dess dissociationsgrad är minimal, och vid vilken skiljegränsen går mellan dess basliknande och dess syreartade dissociationstillstånd.

Ett särskilt ingående studium har amerikanaren T. BRAILS-

FORD ROBERTSON ägnat de produkter, som uppstå genom äggviteämnenas förening med oorganiska kationer och anioner. Hans forskning har särskilt gått ut på att visa, att bildningen av äggvitesalter, såväl med anioner som med kationer, följer samma enkla, stökiometriska lagar som mera okomplicerade och därför lättare överskådliga saltartade föreningar. Därvid har han särskilt opponerat mot det betraktelsesätt som i elektrolyternas bindning vid äggvita endast vill se ett specialfall av adsorptionsfenomenen inom kolloida system. Dessa ROBERTSONS undersökningar och teorier ha, ehuru med en obestridlig ensidighet, upptagits av dennes landsman, den nyligen avlidne JAQUES LOEB, namnkunnig genom sina lysande forskningsresultat över den konstgjorda partenogenesen. Vad som av hans studier inom proteinkemien i detta sammanhang förtjänar särskilt noteras är, att han helt vill förneka det berättigade i uppställandet av de s. k. HOFMEISTER'ska ionserierna i fråga om elektrolyters koagulerande verkan på äggvitelösningar. Den med utgångspunkt från HOFMEISTER's undersökningar särskilt av PAULI och hans medarbetare närmare utvecklade teorien, beträffande denna form av neutralsaltverkan, har av LOEB gjorts till föremål för en oförstående kritik. Enligt hans förmenande skulle ingen annan skillnad i de enkla ionernas effekt visavis proteinlösningar föreligga än den, som betingas av deras olika valens. Man torde med fog kunna giva BAYLISS rätt i hans omdöme, att LOEB härvid kritiserar »adversely, but not very fairly».

Den tidigare oförklarliga, förmenta nyckfullheten i de s. k. neutralsalternas förhållande till äggvitelösningar har bragts i system först genom uppställandet av ifrågavarande teori om ionernas ävensom äggvitesolernas olika hydratationsgrad så-

som det bestämmande i fråga om fällande verkan resp. fällbarhet. Den HOFMEISTER'ska serien är i själva verket ett uttryck för den gradvisa förändringen av de däri ingående serieelementens, vad FREUNDLICH kallar lyotropa verkan. Ju större resp. ioners hydratationsbenägenhet är, desto större blir den äggvitefällande verkan hos det av den ifrågavarande jonen uppbyggda neutralsaltet.

Att emellertid vid övergång till en utpräglad sur reaktion hos lösningsmediet en fullständig omkastning sker beträffande anionernas fällande verkan, är först iakttaget av POSTERNAK. Bland dem, som ytterligare ägnat ifrågavarande fenomen intresse, märkas PAULI och HÖBER. Någon nöjaktig förklaring för detta anmärkningsvärda förhållande, att vid sur reaktion den fällande verkan blir störst just hos de utpräglat lyofoba ionerna, har mig veterligen icke förebragts. Icke heller synes det påtagliga sambandet mellan verkan av anioner vid relativ svagt sur reaktion i salthaltiga medier och arten av de rena mineralsyrornas äggvitefällande funktioner tidigare hava uppmärksammats.

METODIK.

De vid föreliggande undersökning använda äggviteämnena ha utgjorts av serumäggvita, huvudsakligen av häst, delvis även nötserum. En stor del av försöksserierna hava utförts med nativserum, utspätt med destillerat vatten till lämplig koncentration. I de fall, där proteinets natur och renhetsgrad varit av betydelse för det föreliggande problemet, har såsom närmare framgår av detaljredogörelserna i

följande kapitel, rena lösningar av resp. serumalbumin och serumglobulin kommit till användning, vilka genom långvarig dialys gjorts så vitt möjligt elektrolytfria.

Några tekniska detaljer som synts mig på ett värdefullt sätt underlätta detta preparationsarbete torde vara förtjänta av en närmare redogörelse. För separation av serum ur det defibrinerande blodet, ävensom för avskiljande och tvättande av äggvitefällningar har en större centrifug kommit till användning. Därtill har jag med några smärre omändringar anpassat en vanlig mjölkseparator. Den verksamma principen i denna maskin är, såsom torde vara bekant, en snabbt roterande hålkon, den s. k. kulan. För gräddseparering är densamma försedd med en serie parallellstående blecklameller, den s. k. insatsen, ävensom med särskilda anordningar för reglerbart tillflöde av nymjölken och avflöde av resp. grädde och skummjölk. I den form jag använt maskinen utan kontinuerlig påfyllning, har insatsen ävensom övrig bleckattiralj borttagits och kulmanteln i stället försetts med ett par radiärt ställda fasta lameller s. k. medbringare, vilkas uppgift, som namnet anger, varit att tvinga kulans innehåll att medfölja vid rotationen. Genom kraftig förgyllning av de delar av kulan, som komma i direkt beröring med centrifuggodset, har sörjts för, att innehållet ej lider någon förändring av metalldelarna. På detta sätt har erhållits en centrifug med i förhållande till maskinens storlek och kraftförbrukning stor kapacitet och effektivitet. Den av mig använda storleken, som med en totalrymd av en liter kan effektivt förarbeta 800 cm^3 åt gången, är icke större än att den utan olägenhet kan anbringas på ett vanligt laborationsbord och kräver icke större motorstyrka än $^1/_4$ hästkraft. Den av själva konstruktionen betingade höga rotations-

hastigheten — 7,500 varv i minuten — medför en synnerligen effektiv centrifugering och en annan konstruktionsdetalj, nämligen den lösa, s. k. självbalanserande kulan utesluter det vid större centrifuger eljest icke negligerbara riskmomentet. För avskiljande av blodkropparna har en centrifugeringstid av 15 minuter visat sig till fyllest, varefter kulan lämnats att själv avstanna. Genom en enkel hävertanordning kan därefter ett klart serum avsifoneras så gott som fullständigt. De smärre blodkroppsmängder, som genom ovarsamhet lätt kunna medfölja serum vid en första centrifugering, avskiljas effektivt genom en ny centrifugering, vid vilken den sparsamma blodkroppsmängden häftar vid kulans vägg, så att ett absolut klart serum utan vidare materialförlust kan avhällas.

Ännu förmånligare ställer sig denna centrifuganordning vid förarbetande av större äggvitefällningar och till synes med samma goda resultat vid samtliga de olika fällningsmetoder, som jag prövat. Den utfällda äggvitan samlar sig nämligen vid den kraftiga centrifugeringen som en seg beklädnad av ganska fast konsistens på kulrummets perifera väggar, så att centrifugatet kan avhällas klart och fullständigt. I jämförelse med de vid äggvitepreparationer eljest nödvändiga, tidsödande och besvärliga filtreringarna har jag funnit detta arbetssätt medföra avsevärda fördelar.

I övrigt har vid framställningen av globulin följts en av W. Reye angiven form för utsaltning med amoniumsulfat. Materialet har lösts och omfällts fyra gånger. Någon uppdelning av globulinet i olika fraktioner har icke företagits. Ur första moderluten från globulinframställningen har serumalbumin med lätthet erhållits i kristalliserad form enligt Hopkins och Pinkus' metod. De erhållna preparaten ha

omkristalliserats två gånger samt därefter tvättats två gånger med en vätska av samma salt- och syrehalt som moderluten.

* *
*

För äggvitepreparatens dialys har använts en dialysator, vars konstruktion i vissa avseenden baserats på en av E. JORDIS tidigare angiven form. I ett antal ringar av starkt kopparbleck, 15 cm. i diameter och 2 cm. höga med utåtvikta flänsar, hava inlötts något koniskt förträngda ringar av samma metall med den fria kanten omvikt. Varje ring är försedd med korta rör för till- och avflöde, allt på sätt som närmare framgår av bifogade skiss. Till apparaten hör, utom en serie sådana ringar, en bottenskål med till- och avlopp i likhet med ringarna, ävensom ett lock av starkt gods för tillslutning av det översta segmentet. Det hela sammanhålles av en stark ring av gjutgods kring bottenskålen med däråt fästa ståndare. En kraftig tvärbalk över locket får fäste i urtagningar på ståndarna samt uppbär i sin tur en tvingskruv, som verkar på locket. Anordningarna torde bäst framgå av figuren. Samtliga metalldelar ha försetts med tjock förtenning. För förfärdigande av dialysmembranerna har den fria randen på ringarnas koniska del överspänts med tät silduk, och med silduken som stödjande skelett ha tunna kollodiumplattor gjutits. Scherings renaste celloidin, som jag använt i form av 4 % (beräknad på torr substans) lösning i lika delar alkohol och eter, har befunnits utgöra fullgott material. Plattorna hava gjutits i en seans, men har det därvid visat sig nödvändigt, att med stor omsorg vaka över att de erhållit lämplig tjocklek och täthet.

Av särskild vikt visade det sig vara att lösningsmedlet endast långsamt tilläts avdunsta, intill dess plattorna fått den tjänliga konsistensen. Efter urlakning i rinnande vatten ha plattorna var för sig kontrollerats med avseende på täthet för äggvita och god permeabilitet för kristalloider. När de icke varit i bruk, hava ringarna med kollodiumplattorna förvarats i rinnande vatten eller mättad tymollösning. Vid dialysatorns hopsättande läggas gummipackningar mellan flänsarna, varpå densamma tätas genom åtdragning av tvingskruven. Segmenten fyllas nu alternerande med vatten och med dialysgodset, varvid givetvis det översta och nedersta fyllas med vatten. Till- och avloppsrören till samhöriga segment förenas med gummislang. Apparaten ger, som synes, stor dialyserande yta i förhållande till vätskevolymen, och genom att låta äggvitelösningen långsamt strömma nerifrån och uppåt samtidigt som vattnet får passera sina segment i motsatt riktning, ökas effektiviteten i enlighet med den s. k. »Gegenstrom»-principen. Naturligtvis kan man också låta dialysgodset förbliva stående i sina segment, vilkas antal avpassas efter behovet.

* *
*

Vid bestämning av äggvitehalten i lösningar har använts en PULFRICH'S »Eintauch»-refraktometer. Till grund för beräkningarna ha lagts kontrollbestämningar med rena äggvitelösningar, vilkas halt beräknats ur kväveanalyser enligt KJELDAHL. För den verkan på brytningsindex, som betingats av andra beståndsdelar än äggvita i de undersökta lösningarna har korrektur införts. Som medelvärde av ett 10-tal bestäm-

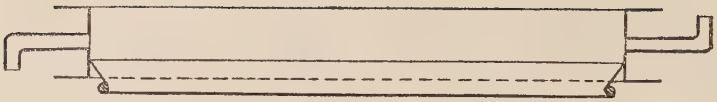

Fig. 1.

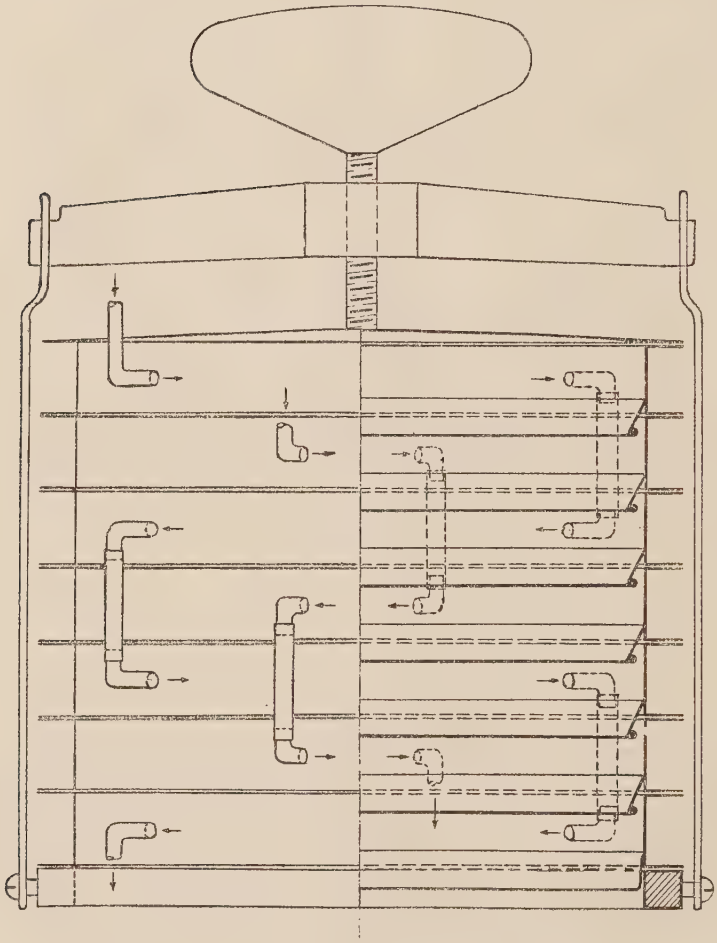

Fig. 2.

ningar har erhållits 0,285 ‰ = 0,0204 n alb-N pr skaldel. Metoden är sålunda icke särdeles känslig och någon säker skillnad i fråga om brytningsindex, förhållande till kvävehalt mellan albumin- och globulinlösningar har jag icke kunnat fastställa i lösningar av den koncentration, som jag arbetat med. Jag har därför använt samma faktor i fråga om såväl globulin- som albuminlösningarna ävensom sådana av nativserum. Variationer i lösningarnas reaktion och salthalt inom de gränser som förekomma i de följande försöken ha icke påvisbart förskjutit äggviteämnenas refraktometervärden, såsom framgår av bifogade sammanställning.

* *
*

Bestämning av lösningarnas vätejonkoncentration har endast gjorts kolorimetriskt. Därvid har använts CLARK och LUBS indikatorserie samt som standardlösningar den av MC ILVAINE angivna kombinationen citronsyra och sekundärt natriumfosfat. För saltverkan på indikatorerna har korrigerats genom tillsats av klornatrium till jämförelselösningarna i en koncentration motsvarande provets salthalt. Genom särskilda försök har utrönts, att verkan av ekvivalenta mängder icke hydrolyserbara neutralsalter icke påvisbart differerar. För det s. k. proteinfelet, där äggvitehaltiga lösningar kommit till undersökning, har analog korrigering naturligtvis icke kunnat anbringas, men de använda indikatorerna skola ju utmärka sig för ringa äggvitekänslighet. Bestämningarna hava utförts i provrör av lika vidd i en komparator enl. WALEPOLE med korrektion för den undersökta vätskans

egenfärg och eventuella optiska inhomogenitet enligt WALEPOLE'S princip.

TAB. I.

Förhållandet mellan funna och beräknade refraktometervärden; temp. 17°.

	Skaldelar.	Beräkn.
Dest. vatten	15	—
3 n NaCl	89,2	—
1 n H_2SO_4	29	—
Nötserum (Alb-N = 15,4 ‰)	58,8	—
» + H_2O (1 + 1)	37	36,9
» + » (1 + 3)	21	20,9
» + 3 n NaCl (1 + 1)	73,9	74
» + » » (1 + 3)	81,25	81,5
» + 1 n H_2SO_4 (1 + 1) avläst omedelb.	43,7	43,9
» + » » » » efter 12 tim.	44,05	»
» + » » (1 + 3) » omedelb.	36,3	36,45
» + » » » » efter 12 tim.	36,35	»
Albuminlösning (ngt Amsulfathaltig) Alb-N = 13,1 ‰	46,1	—
» + H_2O (1 + 1)	30,5	30,55
» + » (1 + 3)	22,8	22,78
» + 3 n NaCl (1 + 1)	67,5	67,65
» + » » (1 + 3)	78,4	78,4
» + 1 n H_2SO_4 (1 + 1) avläst omedelb.	37,5	37,6
» + » » » » efter 12 tim.	37,65	»
» + » » (1 + 3) » omedelb.	33,2	33,3
» + » » » » efter 12 tim.	33,2	»

INVERKAN AV SYREKONCENTRATIONEN.

Vid ett fenomen sådant som äggvitelösningars utfällning med syror, har man säkerligen att räkna med ett flertal

faktorer, som påverka reaktionsförloppet. För en närmare analys därav har en sådan försöksanordning synts mig erforderlig, att de enskilda faktorerna med tänkbar verkan på reaktionsmekanismen varierats var för sig, under det övriga eventuellt influerande moment hållits konstanta. I första hand syntes det vara av intresse att få en uppfattning om verkan av de båda i syror ingående radikalerna, vätejoner och anioner, var för sig. Över härtill lämpliga försöksanordningar fingo några förprov orientera, ävensom i grova drag över gränserna för fällningsreaktionens positiva utfall. Med ledning härav anordnades de följande försöksserierna.

Som en första faktor, vars variationer närmare undersöktes med avseende på sitt inflytande på äggvitefällningen, valdes syregraden. Till de första försöksserierna användes som äggvitelösning spädningar av nötserum 1 : 5, tillsatta med minsta erforderliga mängd natriumsalt av den anion, undersökningen omfattade, för att globulinerna skulle förbliva i lösning. Härtill åtgick i allmänhet 0,04 till 0,06 mol. pr liter räknat. Av de starkare fällande anionerna användes i dessa försök en totalkoncentration av $^1/_2$ mol., i serierna av de mindre verksamma, nämligen klor- och sulfatjonerna användes resp. 1,5- och 2,4- normala lösningar. Försöksanordningen var i korthet följande: I tio höga preparatrör, rymmande c:a 20 cm^3, avpipetterades 1-normal syrelösning av den undersökta jonen i fallande geometrisk serie, på sätt som tabellerna utvisa. I samtliga rör påfylldes därpå motsvarande neutralsaltlösning, vanligen natriumsaltet, likaledes i normal koncentration, så att vätskekvantiteten i samtliga rör i serien blev densamma, 8 cm^3. En härmed lika volym av äggvitelösningen tillsattes därpå, och genom omedelbar försiktig vändning av rören sörjdes för innehållets nog-

TAB. II.

Fällning med konstant anionhalt och fallande syrekonc. Nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,21 °/₀₀).

		$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	1/8	1/16	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{256}$	$\frac{1}{512}$	n syra
Anion: NO_3	$\frac{n}{2}$	++[1]	++	++	++	++	++	+	—	—	
J	»	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
Br	»	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
Cl	1,5 n	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
SCN	$\frac{n}{2}$	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
PO_3	»	++	++	—	—	—	—	—	—	—	
CCl_3COO	»	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
ClO_3	»	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
SO_4	2,4 n	++	++	++	++	++	++	+	—	—	

granna blandning. I allmänhet lämnades försöksserierna 12 timmar, innan resultaten definitivt avlästes. Som av tabell II framgår, är det en relativt liten variationsbredd med avseende på den tillsatta syrekvantiteten mellan de prov, där en börjande fällning kan iakttagas, och den lägsta koncentration, vid vilken fullständig utfällning skett. Och vid här angivna försöksbetingelser äro som synes värdena på denna variabla faktor desamma för flertalet av de undersökta anionerna. Serier med prov i tätare följd låter detta förhållande än tydligare framträda. Nu torde man vid fenomen av denna art a priori kunna antaga, att det icke är den tillsatta mängden syra i och för sig, utan fastmera den i lösningen rådande vätejonkoncentrationen, som är bestämmande för reaktionsförloppet. Att även de absoluta mängderna av flertalet av de olika undersökta syrorna visa så nära över-

[1] ++ utmärker fullständig utfällning, + partiell fällning utan avseende vid graden därav.

TAB. III.

Fällningsgrad (i procent av den tillförda äggvitan) — övre raden — och lösningarnas vätejonexponent — undre raden — vid konstant anionhalt och fallande syrekoncentration: Nötserum 1 : 10 (Alb − N = 1,34 ‰).

		8	6,8	6,1	5,4	4,9	4,4	4,0	3,5	3,1	2,8	2,5	2,25	2 × $\frac{1}{512}$ n syra
Anion : NO_3 $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	100	90	55	20	sp [1]	sp [1]	0	0	0	0
	p H	*3,3*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,68*
J $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	100	100	60	25	3	3	sp [1]	0	0	0
	p H	*3,4*	*3,45*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*
SCN $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	100	100	60	25	5	5	sp	0	0	0
	p H	*3,35*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*
ClO_3 $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	100	80	35	15	sp [1]	0	0	0	0	0
	p H	*3,35*	*3,45*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*	*3,7*
CCl_3COO $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	75	15	sp [1]	sp [1]	sp [1]	0	0	0	0	0
	p H	*3,4*	*3,5*	*3,55*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*	*3,8*	*3,85*
Cl 1,5 n	fällnings-%	100	100	90	75	45	20	10	0	0	0	0	0	0
	p H	*3,25*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*365,*	*3,7*	*3,75*
SO_4 2,4 n	fällnings-%	100	100	100	100	65	30	15	sp	sp	0 [2]	0 [2]	0 [2]	0 [2]
	p H	*3,3*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*

[1]) Refraktometriskt icke bestämbart.

[2]) Ammoniumsulfat i denna konc. gav även i neutral reaktion en obetydlig fällning med utsp. blodserum antagligen av fibringlobulin.

ensstämmelse med hänsyn till verkan kan väl anses bero därpå, att det i flertalet fall rör sig om höggradigt dissocierade syror, varav följer att vätejonkoncentrationen i de olika fallen blir nära nog proportionell mot syrekoncentrationen. Härtill kommer den »buffertverkan», som äggvitan själv i sin egenskap av svagt dissocierad elektrolyt utövar gentemot branta förskjutningar i vätejonkoncentrationen.

Bestämningarna av nämnda faktor visa i själva verket ett praktiskt taget fullständigt fixt värde i samtliga prov med partiell resp. nätt och jämt komplett fällning av äggvitan. Det inställer sig uppenbarligen ett jämnviktsläge mellan den tillförda syrekvantiteten och mängden bildad fällning, så att lösningens aciditet förblir konstant, intill dess all äggvita övergått i den olösta fasen. Härav kan ytterligare den slutsatsen dragas, att fällningens bildande utgör eller föregås av en process, som är förenad med bindande av fria vätejoner. Att en ökning av anionkoncentrationen långt utöver den för fullständig fällning erforderliga icke förskjuter värdet av den verksamma vätejonkoncentrationen, framgår av följande försök med nitrat och bromid i 0,5, 1 och 2-molara koncentrationer. Vad beträffar storleksordningen av nämnda faktor — här liksom i det följande uttryckt genom angivande av vätejonexponenten — pH —, är densamma enligt mitt förmenande anmärkningsvärt låg (d. v. s. pH-värdet är större än väntat). Emellertid ligger aciditeten likvisst avsevärt högre än de undersökta äggvitekropparnas isoelektriska punkt. Till den närmare diskussionen av betydelsen av denna faktors storlek återkommer jag i det följande.

Uppfattningen av vätejonkoncentrationen i lösningen som den utslagsgivande faktorn för äggvitefällningens uppkomst får ytterligare experimentellt stöd av metafosforsy-

TAB. IV.

Fällningsgradens beroende av syrekoncentrationen vid olika anionhalt: Nötserum 1 : 10 (Alb − N = 1,34 ‰).

		8	6,8	6,1	5,4	4,9	4,4	4,0	3,5	3,1	2,8	2,5	2,25	2 × $\frac{1}{512}$ n syra
Anion : NO_3 $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	100	90	55	20	sp [1])	sp [1])	0	0	0	0
	p H	*3,3*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,68*
» 1 n	fällnings-%	100	100	100	100	100	50	20	sp [1])	sp [1])	0	0	0	0
	p H	*3,3*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*
» 2 n	fällnings-%	100	100	100	100	100	60	30	8	sp [1])	0	0	0	0
	p H	*3,3*	*3,45*	*3,55*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*
Br $\frac{n}{2}$	fällnings-%	100	100	100	95	80	30	5	sp [1])	0	0	0	0	0
	p H	*3,25*	*3,35*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*
» 1 n	fällnings-%	100	100	100	100	100	45	25	10	0	0	0	0	0
	p H	*3,3*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,68*
» 2 n	fällnings-%	100	100	100	100	100	60	40	10	0	0	0	0	0
	p H	*3,3*	*3,4*	*3,5*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*

[1]) Refraktometriskt icke bestämbart.

TAB. V.

Fällningsgrad och lösningarnas vätejonexponent vid konstant anionhalt och fallande syrekoncentration. Nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,34 °/₀₀).

Metafosforsyra; $PO_3^- \frac{n}{2}$;

Syrekonc.	0,25	0,23	0,22	0,20	0,19	0,175	0,165	0,15 n.
Fällnings %	100	90	60	35	25	18	8	sp.
pH	*3,55*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*

rans förhållande. Denna skiljer sig, som tabell II utvisar, skarpt från de övriga undersökta anionerna med avseende på den syrekoncentration som erfordras för äggvitefällningens uppkomst. Orsaken härtill är uppenbarligen den, att det rör sig om en syra med avsevärt lägre dissociationskonstant än de övriga i försöksserien, och av tabell V framgår, att trots de större absoluta syremängder, som krävas, fällningen likafullt äger rum vid enahanda aciditetsgrad.

Metafosforsyran påkallar särskild uppmärksamhet även ur ett par andra synpunkter. Iakttagelsen att fosforsyror erhöllos som klyvningsprodukt vid dekomposition av vissa äggviteartade ämnen ledde tidigt intresset på dessa syrors förhållande till i sig själva fosforfria proteiner. Den omständigheten, att metafosforsyran i motsats till ortofosforsyran verkar fällande på äggvitelösningar, ledde till det antagandet, att vid denna process skulle bildas föreningar av likartad byggnad som de naturliga nukleoproteiderna. Redan GRAHAM framställde och beskrev en sådan förbindelse mellan metafosforsyra och gelatin, och med utgångspunkt därifrån diskuterade han frågan, huruvida metafosforsyran vore att hänföra till de kolloida eller kristalloida substanserna. BILTZ, som år 1904 beskrev en serie

fällningsreaktioner mellan äggvitelösningar och andra i lösning varande kolloida substanser, hänför äggvitas utfällning med metafosforsyra till denna reaktionstyp av kolloiders ömsesidiga utflockning. Nyare undersökningar över metafosforsyrans och metafosfatens konstitution särskilt av TAMMANN ha lett till påvisande av, att under dessa benämningar innefattas en serie olika komplexa föreningar. I detta fall skulle sålunda MYLIUS tidigare återgivna teori om komplex natur hos syror som en förutsättning för deras äggvitefällande verkan kunna anses tillämplig. Någon närmare undersökning över eventuella skiljaktigheter i de olika metafosforsyrornas förhållande till äggvitelösningar har jag icke ansett erbjuda något intresse i detta sammanhang. Men dels på grund av syrans nyttjande som äggvitereagens dels på grund av de tidigare undersökningar, som föreligga över dess föreningar med äggvita, har jag dock velat medtaga en representant för ifrågavarande grupp av syror som ett led i denna undersökningsserie. Det av mig undersökta preparatet utgjordes av handelns vanliga acid. phosphoric. glacial. Det befanns innehålla avsevärda mängder natriumsalt, nämligen icke mindre än $^1/_4$ mol. pr mol. fri syra. Det var icke heller fritt från förorening med ortosyra. Trots den inskränkning i fråga om resultatens beviskraft, som betingas av den bristande renhetsgraden, torde dock av försöken framgå, att den med hänsyn till syregradens roll för dess äggvitefällande verkan kan samordnas med de övriga här undersökta syrorna med lyofoba anioner, och att den därvidlag kan jämnställas med exempelvis de analogt byggda HNO_3 och $HClO_3$.

I proven med ofullständig äggvitefällning gjordes kataforesförsök med den utfällda äggvitan i samma medium,

vari den fällts. I samtliga prov, även de, där endast begynnande fällning förelåg, vandrade densamma till katoden.

Resultatet av undersökningen i vad den avser syregradens inflytande på äggvitefällning med elektrolyter vid sur reaktion, kan sålunda sammanfattas därhän, att det härvid fordras en konstant, relativt låg, av anionens art och koncentration oberoende vätejonkoncentration. För motsvarande försök med variation av aciditetsgraden, utförda med rena äggvitelösningar, lämnas redogörelse i ett följande kapitel.

ANIONKONCENTRATIONEN.

En andra faktor, vars kvantitativa återverkan på äggvitefällningen vid sur reaktion studerats, har varit koncentrationen av den fällande anionen. Härvid ha försöken anordnats så, att vätejonkoncentrationen har hållits någorlunda konstant vid ett värde av omkring 2. Med valet av denna aciditetsgrad har avsetts att vinna trygghet mot ett medinflytande av eventuella smärre förskjutningar av aciditeten på fällningsförloppet, på samma gång som det synts mig önskvärt, att syregraden ej gjorts onödigt stor. Försöksanordningen har i övrigt varit densamma som i de föregående serierna. Även i dessa fall har använts blandning av fri syra och i regel natriumsaltet av resp. anioner. Undantag ha gjorts beträffande rodan- och sulfatserien. I det förra fallet, emedan jag icke haft tillgång till natriumsaltet och ej ansett erforderligt att särskilt framställa detsamma, varför i stället motsvarande kaliumsalt kommit till användning. I proven med sulfat-jon har ammoniumsulfat använts, emedan natriumsaltets löslighet icke är tillräcklig för att medgiva beredningar av de högre undersökta koncentrationerna.

TAB. VI.

Sammanställning av till verkningsgraden likvärdiga anionkoncentrationer vid konstant vätejonkoncentration (pH omkr. 2); nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,29 °/₀₀).

	Sv. opalescens.	Tät opalescens gelatinös konsist.	Börj. utfälln.	Fullst. utfälln.
PO_3^-	0,012 n[1]	0,016 n[1]	0,032 n[1]	0,125 n
SCN	0,048 n[1]	0,064 n	0,08 n	0,15 n
CCl_3COO . . .	0,064 n	0,08 n	0,10 n	0,15 n
J	0,08 n	0,10 n	0,125 n	0,20 n
NO_3	0,10 n	0,125 n	0,20 n	0,25 n
Br	0,25 n	0,4 n	0,5 n	0,6 n
Cl	0,4 n	0,6 n	0,84 n	1 n
SO_4	0,7 n	0,84 n	1 n	1,7 n

De olika anionerna visa såsom av tabellen framgår, vitt skilda värden i fråga om verkningsgraden såväl om man tar hänsyn till den lägsta koncentration, vid vilken utfällning kan konstateras, som ock i fråga om lägsta fullständigt fällande mängd. Ett ordnande av de olika anionerna efter deras verkningsgrad giver, som synes — i den mån desamma tidigare undersökts i berörda hänseende — den omvända HOFMEISTER'ska serien. I detta avseende utgöra sålunda mina resultat en bekräftelse av POSTERNAK's, PAULI's och HÖBER's tidigare undersökningar. Metafosforsyran fäller, som synes, äggvita vid en avsevärt lägre koncentration än de övriga undersökta anionerna. För de omständigheter, som sannolikt betinga dess särställning, har tidigare redogjorts.

För att lämna bättre översikt över koncentrationen av de olika jonerna vid enahanda verkningsgrad anges härnedan deras relationstal med hänsyn till den fällande effekten vid här undersökta aciditetsgrad och äggvitekoncentration, var-

[1] Tillsats av HCl till $pH = 2$.

vid den i lägsta koncentration verksamma, alltså rodanjonen, sättes = 1.

PO_3	SCN	CCl_3COO	J	NO_3	Br	Cl	SO_4
0,25(0,8)	1	1,25(1)	1,6(1,25)	2(1,6)	6(4)	9(8)	13(11)

Relationstalen ha beräknats efter koncentrationerna vid starkaste »gelatinisering» utan utfällning. Om i stället gränsvärdena för fullständig utfällning läggas till grund för beräkningen erhållas de inom parentes angivna värdena. Siffrorna hänföra sig till ekvivalentnormala värden. Om, vilket måhända är riktigare, de molara koncentrationerna jämföras får serien följande utseende:

SCN	CCl_3COO	J	NO_3	Br	So_4	Cl
1	1,25(1)	1,6(1,25)	2(1,6)	6(4)	6,5(5,5)	9(8)

Det synes mig värt notera, att LOEB (l. c. s. 14) i sina försök att bortförklara den olikhet i jonernas verkan på proteinsystem, som lett till uppställande av de HOFMEISTER'ska serierna, åberopat bristande hänsynstagande till vätejonkoncentrationen, som en av de väsentligaste orsakerna till den enligt hans förmenande mestadels skenbara olikheten i verkan. Mot här föreliggande försöksresultat kan i varje fall denna invändning icke anföras.

I ännu ett avseende torde det vara anledning att dröja vid resultaten i denna försöksserie. Effekten av de lägre verksamma saltkoncentrationerna ter sig i form av en med stigande saltkoncentration tilltagande opalescens hos vätskan. Härefter följer ett koncentrationsområde, inom vilket den synliga effekten är en tät grumling av vätskan, samtidigt som densamma visar starkt ökad viskositet. Denna viskösa »suspension» håller sig stabil även vid längre förvaring, och först närvaro av högre saltkoncentration leder till utflock-

ning. Det synes mig uppenbart att anionverkan här är av tvåfaldig art. Den första, som framträder enbart vid lägre koncentration, synes bestå i ett överförande av den hydrofila äggvitekolloiden i en hydrofob form, vilken först därefter utfälles av ytterligare mängder tillförd elektrolyt. Denna iakttagelse har jag även funnit anförd av LOEB (l. c. sid. 205).

Det måste anses hava sitt givna intresse att jämföra den koncentration, vari anioner verka fällande på äggvita vid sur reaktion, med storleken av motsvarande faktor vid utsaltning i neutralt resp. svagt alkaliskt medium. Om därvid till jämförelse tages en av de under de senast anförda betingelserna verksammaste och på samma gång bäst kända: sulfatjonen, fordras ju av denna för fullständig utfällning av globulin, i form av magnesiumsulfat 5,3-normal (mättad) lösning, i form av ammoniumsulfat 4-normal (halvmättad). de vid sur reaktion verksammaste: rodan-nitrat-jonerna faller serumäggvita fullständigt redan vid en koncentration av $< 0{,}25$ n. Redan härav torde den slutsatsen vara berättigad, att äggvitefällningen vid sur reaktion och utsaltning ur neutral resp. svagt alkalisk lösning icke kunna betraktas som analoga fenomen, att med andra ord skillnaden mellan de båda företeelserna ligger djupare än blott och bart i en omkastning med avseende på verkningsföljden av den HOFMEISTER'ska anionserien.

Så har emellertid företeelsen uppenbarligen tolkats av tidigare iakttagare, och följande sammanfattande omdöme av ROBERTSON (l. c. sid. 120) torde kunna betraktas som ett adekvat uttryck härför: »Acidifying a solution of egg-white reverses the functions of the *coagulating*[1] ions, those which

[1] Kursivering här.

coagulated elektronegative protein most strongly now inhibit its coagulation most strongly. Those which inhibited its coagulation now induce *coagulation*[1].»

KATIONERNAS BETYDELSE.

Av kationerna intager vätejonen här som så ofta en särställning, och för arten av dess inverkan vid här undersökta form av äggvitefällning har tidigare redogjorts. Övriga katıoner som påkalla uppmärksamhet i detta sammanhang äro de, som ingå som positiva radikaler i de s. k. neutralsalterna, alltså i första rummet Li, Na, K, NH_4, Mg, Ca, Sr och Ba. I fråga om äggvitas utsaltning vid neutralt resp. svagt alkalisk reaktion spelar som bekant kationens art en betydelsefull roll vid sidan av anionen, om den ock kvantitativt sett, är mindre utslagsgivande. Alldenstund här undersökta reaktioner försiggå vid en sådan aciditetsgrad, att äggvitans syredissociation måste vara fullständigt tillbakatryckt, har man a priori anledning förmoda, att kationernas inflytande på reaktionens förlopp skulle vara än mindre än vid neutral reaktion, måhända ingen. Ett avgörande härutinnan kunde dock endast den experimentella prövningen lämna, och jag har för den skull undersökt utom de i regel använda natriumföreningarna, även övriga vanliga neutralsaltkationerna i kombination med fler eller färre av anionerna.

Bifogade tablå lämnar översikt över vilka saltkombinationer, som blivit föremål för undersökning. Undersökningen har omfattat dels en prövning av eventuell återverkan på aciditetsgraden vid vilken utfällning äger rum, dels

[1] Kursivering här.

TAB. VII.

Undersökta anion-kation-kombinationer.

	Cl	Br	J	SCN	NO_3	$P\overline{O}_3$	ClO_3	SO_4	CCl_3COO
Li	+	+			+				
Na . . .	+	+	+		+	+	+		+
K	+	+	+	+	+		+		
NH_4 . . .	+	+		+	+			+	
Mg . . .	+	+			+			+	
Ca	+				+				
Sr	+				+				
Ba	+				+		+		

ock av de för begynnande och för total utfällning erforderliga anionkoncentrationerna vid konstant aciditet. Undersökningsresultaten ha i dessa delar blivit synnerligen enahanda. Jag avstår under dessa förhållanden från ett återgivande av försöksprotokollen från de olika undersökningsserierna. Som resultat av undersökningen i denna del framgår nämligen, att arten av den ingående »neutralsalts»-kationen är utan inflytande på elektrolytfällningen av äggvitelösningar vid sur reaktion.

I denna punkt avvika mina undersökningsresultat från de iakttagelser, som anföras av HÖBER ävensom av PAULI och FALEK. Försöksanordningarna ha dock icke varit helt jämförliga.

REAKTIONSFÖRLOPPET VID NÄRVARO AV FLERA ANIONER.

Med hänsyn till den betydande skiljaktigheten i olika anioners fällande verkan på äggvitelösningar borde det erbjuda ett visst intresse att närmare undersöka reaktionsförloppet

under inverkan av en kombination av olika anioner. Särskilt har det synts mig betydelsefullt att utröna, i vad mån de mera lyofila anionerna, tillsatta i stor, dock icke fällande koncentration, verkade modifierande på effekten av de i och för sig starkt fällande syreradikalerna. De i detta syfte utförda försöken ha anordnats dels under den formen, att anionparen samtidigt fått verka på proteinlösningen vid den i dessa försöksserier genomgående använda vätejonkoncentrationen pH = 2, dels har i parallellserier den lyofila jonen först tillsatts och lämnats i beröring med den lösta äggvitan vid enahanda aciditetsgrad under 12 timmar vid rumstemperatur, varpå lösningen av den andra jonen tillsatts, och försöksresultaten avlästs efter förloppet av samma tidrymd. I bifogade tabeller återgivas försöksresultaten av undersökningar, under verkan av kombinationerna ortofosfat och sulfat å ena sidan med jodid-, rodanid- och nitratlösningar å den andra. Reaktionernas utfall har såsom tabellerna utvisa tett sig ganska oregelbundet, och en enkel formel för återgivande av verkan av anionkombinationerna under de angivna försöksbetingelserna låter sig icke uppställas. Några allmänna drag beträffande utfallet av reaktionen kunna

TAB. VIII.

Fällningsgrad vid samtidig närvaro av H_2PO_4 och NO_3; konstant vätejonkoncentration (pH omkr. 2); nötserum 1 : 10) (Alb-N = 1,29 ‰).

NO_3	H_2PO_4:	1,25	0,63	0,31	0,15 mol.
1 n . . .		fullst. utfälln.			
0,5 » . . .		fullst. utfälln.			
0,25 » . . .	90 % fälln.	tät opal. börj. fälln.	tät opal. gelat. konsist.		stark opal.
0,125 » . . .	medelst. opal.	sv. opal.	n klar		o

TAB. IX.

= Tab. VIII med NO_3 tillsatt 12 tim. senare.

NO_3	H_2PO_4:	1,25	0,63	0,31	0,15 mol.
0,5	n . . .	fullst. utfälln.			
0,25	» . . .	90 % fälln vätsk. opal.	ogenomsk. börj. fälln.	st. opal. måttl. visk.	
0,125	» . . .	sv. opal.		n. klar.	

TAB. X.

Fällningsgrad vid samtidig närvaro av SO_4 och NO_3; konstant vätejonkoncentration (pH omkr. 2); nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,29 °/₀₀).

NO_3	SO_4:	1,5	1	0,75	0,5 n
1	n . . .	100	90	40 %	sp. fälln.
0,5	» . . .	90	60	30 %	» »
0,25	» . . .	60	30	5 %	» »
0,125	» . . .	40	5	sp.	» »

I samtliga prov den ovanstående vätskan klar.

Tab. XI.

= Tab. X med NO_3 tillsatt 12 tim. senare.

NO_3	SO_4	1,5	1	0,75	0,5 n
0,5	n . . .	100	70	50	90 % fälln.
0,25	» . . .	60	20 %	vätsk. st. opal. part. fälln.	vätsk. opal. viskös, börj. fälln.
0,125	» . . .	50 %	helt ogenomsk. st. viskös o fälln.	n. klar	o

TAB. XII.

Fällningsgrad vid samtidig närvaro av H_2PO_4 och J, konstant vätejonkonc. (pH omkr. 2); nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,29 ‰).

J	H_2PO_4:	1,25	0,63	0,31	0,15 mol.
1/4	n . . .	fullst. utfällning.			
1/8	. . .	80 % fällning. vätsk. opal.	vätsk. helt ogenomsk. ej viskös ringa fällning.	sv. opal.	medelst. opal.
1/16	» . . .	medelst. opal.		n. klar	

TAB. XIII.

= *Tab. XII med J tillsatt 12 tim. senare.*

J	H_2PO_4:	1,25	0,63	0,31	0,15 mol.
1/4	n . . .	fullst. fällning.			80 % fällning. vätsk. opal.
1/8	» . . .	80 % fällning. vätsk. opal.	v. helt ogenomsk. ej viskös ringa fällning.	måttl. opal. o fällning.	sv. opal.
1/16	» . . .	helt ogenomsk. ej viskös ringa fällning.		o	

TAB. XIV.

Fällningsgrad vid samtidig närvaro av SO_4 och J; konstant vätekonc. (pH omkr. 2; nötserum (1 : 10 (Alb-N = 1,29 ‰).

J	SO_4:	1,5	1	0,75	0,50 n
1/4	n	70 % vätska kl.	50 % fällning. v. opal.	st. opal. part. fällning.	helt ogenomsk. ringa fällning.
1/8	»	50 % fällning. v. opal.	st. opal. part. fällning.	st. opal. o fällning.	sv. opal.
1/16	»	v. opal. ringa fällning.	sv. opal.	sv. opal.	måttl. opal.

TAB. XV.

= Tab. XIV med J tillsatt 12 tim. senare.

J	SO_4: 1,5	1	0,75	0,50 n
$\frac{1}{4}$ n	30 % fälln. v. klar	st. opal; o fälln.		helt ogenomsk. ej viskös o fälln.
$\frac{1}{8}$ »	30 % fälln. v. sv. opal.	v. st. opal. o fälln.	måttl. opal	v. heltogenomsk. o fälln.
$\frac{1}{16}$ »	30 % fälln. v. n. klar	måttl. opal.	sv. opal.	måttl. opal.

TAB. XVI.

Fällningsgrad vid samtidig närvaro av $H_2PO_4^-$ och SCN; konstant vätejonkonc. (pH omkr. 2); nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,29 ‰).

SCN	$H_2PO_4^-$: 1.25	0,63	0,31	0,15 mol.
0,16 n	80	70	40	60 % fälln.
			v. n. klar	
0,08 »	40 % fälln. v. opal.	v. ogenomsk. ej viskös ringa fälln.	n. klar	sv. opal.
0,04 »	sv. opal.		o	

TAB. XVII.

= Tab. XVI med SCN-tillsats 12 tim. senare.

SCN	$H_2PO_4^-$: 1,25	0,63	0,31	0,15 mol.
0,16 n . . .	60	40	20	50 % fälln.
			v. sv. opal.	
0,08 » . . .	40 % fälln. v. opal.	v. ogenomsk. ej viskös o fälln.	o	n. klar
0,04 » . . .	sv. opal.		o	

TAB. XVIII.

Fällningsgrad vid samtidig närvaro av SO_4 och SCN; konstant vätejonkonc. (pH omkr. 2); nötserum 1 : 10 (Alb-N = 1,29 ‰).

SCN	SO_4: 1,5	1	0,75	0,5
0,16 n . . .	50 v. opal.	30 % fälln. v. opal.	st. opal. part fälln.	helt ogenomsk. ej viskös ringa fälln.
0,08 » . . .	20 % fälln. v. opal.	st. opal. part fälln.	sv. opal.	måttl. opal.
0,04 » . . .	sv. opal.	n. klar		

TAB. XIX

= *Tab. XVIII med SCN tillsatt 12 tim. senare.*

SCN	SO_4 1,5	1	0,75	0,5 n
0,16 n . . .	20 % fälln. v. n. klar	st. opal; o fälln.		
0,08 » . . .	v. helt ogenomsk. part fälln.	v. st. opal. o fälln.	måttl. opal.	st. opal.
0,04 » . . .	v. opal. obet. fälln.	sv. opal.		måttl. opal.

dock skönjas. I huvudsak har sålunda närvaron av de lyofila anionerna verkat försvagande på de andras fällningsförmåga, så att i vissa fall avsevärt högre koncentrationer erfordras för att ernå samma verkan, som med rena lösningar av lyofoba anioner. Denna regel är dock icke undantagslös, ty som synes har i vissa fall en starkare effekt erhållits, exempelvis med nitratlösning, än när densamma prövats ensam i motsvarande koncentration. Över huvud taget har den hämmande effekten visat sig proportionsvis långt starkare ifråga om de i och för sig effektivaste av de fällande anionerna, J och SCN. Slutligen är att notera, att hämningsverkan av såväl ortofosfat som sulfat-jonen icke är

proportionell mot dessas koncentration utan kan man skönja ett maximum av effekt vid medelstor koncentration, vid jämförelse inbördes likvisst helt olika för de båda undersökta radikalerna.

Härmed hava anförts några huvuddrag av de båda jonslagens inbördes återverkan på varandra, såsom de framgå av de anställda försöken. När det gäller att söka en antaglig förklaring till de gjorda iakttagelserna, få slutsatserna åtminstone delvis en ganska hypotetisk karaktär. Vad först beträffar huvudeffekten, om jag så må säga, nämligen de lyofila jonernas hämningsverkan, så var denna den vid försökens anställande närmast väntade verkningen, och förklaringen härtill synes mig kunna antagas vara den, att det inträder en konkurrens emellan de båda slagen anioner om den förefintliga äggvitekvantiteten, varvid den lyofoba radikalens större »affinitet» till äggvitemolekylen kompenseras av det andra jonslagets högre koncentration. Orsaken att hämningsverkan relativt taget blir större vid de starkast fällande jonerna, kunde tänkas ligga däruti, att dessas lägre absoluta koncentration gör proportionen mellan de konkurrerande massorna än ogynnsammare för deras vidkommande, än vad som uppväges av deras större aviditet till proteinmolekylen.

Försöken med 12 timmars intervall mellan tillsatsen av de hämmande och de fällande ämnena avsågo att utröna, huruvida någon fixation av de först tillsatta jonerna till äggvitan skulle inträda, vilken omständighet i så fall borde yttra sig under formen av en ökad hämningsverkan. Något enhetligt resultat till stöd för ett sådant antagande ha, som synes, försöken icke lämnat. Där skiljaktigheten i verkan mellan resp. lyofob och lyofil jon är mindre pronon-

cerad, såsom fallet är med exempelvis nitrat- och sulfatjonerna, synes under vissa omständigheter en summation av resp. radikalers fällningsverkan kunna inträda.

Till sist några ord om det anmärkta förhållandet att de högsta undersökta koncentrationerna av de lyofila jonerna visat mindre hämningsverkan än de medelstora. Denna iakttagelse synes mig i viss mån bekräfta den tidigare påtalade »dualismen» ifråga om fällningsverkan över huvud taget. Hämningen skulle vid nämnda antagande närmast få anses träffa den del av de lyofoba jonernas verkan, som jag i det föregående betecknat som ett överförande av äggvitekolloiden i en hydrofob form. För den senare verkningsfasen, utfällningen eller, om man så vill, utsaltningen av suspensionskolloiden skulle därvid kunna ifrågasättas en svagare hämningsverkan, möjligen rent av en understödjande effekt från den lyofila radikalens sida.

TAB. XX.

Sammanställning av de för resp. globulin och albumin erforderliga anjonkoncentrationerna för ernående av likartad verkan; konstant vätejonkoncentration (pH omkr. 2) Prot - N = 1,4 ‰.

		Sv. opal.	Tät opal.	Börj. utf.	Fullst. utf.
SCN	Glob.	0,048 n	0,064 n	0,08 n	0,1 n
	Alb.	—	—	0,064 n	0,1 n
J	Glob.	0,08 n	0,10 n	0,125 n	0,16 n
	Alb.	—	—	0,16 n	0,24 n
NO_3	Glob.	0,10 n	0,16 n	0,20 n	0,25 n
	Alb.	0,16 n	—	0,25 n	0,4 n
Br	Glob.	0,25 n	0,4 n	0,6	0,8 n
	Alb.	0,4 n	—	0,5	0,8 n

Fällningsgrad (i procent av den tillförda äggvitan), ävensom lösningens vätejonexponent vid överskott av anion och fallande syrekoncentration; rena lösningar av albumin och globulin; prot-N 1,4 ‰.

			8	6,8	6,1	5,4	4,9	4,4	4,0	3,5	3,1	2,8	2,5	2,25	2 × $\frac{1}{512}$ syra
$SCN\ \frac{n}{2}$	Glob.	fällnings-%	100	100	100	100	70	40	20	sp	sp	0	0	0	0
		pH	*2,5*	*3,1*	*3,4*	*3,5*	*3,5*	*3,5*	*3,5*	*3,55*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,7*	*3,75*
	Alb.	fällnings-%	100	100	100	80	55	30	sp	sp	sp	0	0	0	0
		pH	*2,55*	*3,2*	*3,5*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*	*3,7*	*3,8*
$NO_3\ \frac{n}{2}$	Glob.	fällnings-%	100	100	100	90	60	25	10	sp	sp	0	0	0	0
		pH	*2,6*	*3,2*	*3,4*	*3,5*	*3,5*	*3,5*	*3,5*	*3,55*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,7*	*3,7*
	Alb.	fällnings-%	100	100	95	65	40	15	sp	sp	0	0	0	0	0
		pH	*2,8*	*3,3*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,68*	*3,7*	*3,75*	*3,8*
$Br\ \frac{n}{2}$	Glob.	fällnings-%	100	100	100	75	30	8	sp	sp	0	0	0	0	0
		pH	*2,5*	*3,0*	*3,4*	*3,5*	*3,5*	*3,55*	*3,55*	*3,6*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,7*	*3,75*
	Alb.	fällnings-%	100	100	80	45	15	sp	sp	0	0	0	0	0	0
		pH	*2,7*	*3,4*	*3,6*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,65*	*3,7*	*3,75*	*3,78*	*3,85*

UNDERSÖKNING AV RENA ÄGGVITELÖSNINGAR.

Serumalbuminets och -globulinets förhållande vid elektrolytfällning vid sur reaktion.

I fråga om utfällning av äggvitelösningar med neutralsalt vid neutral resp. svagt alkalisk reaktion ställer sig, som känt är, verkan väsentligen olika för de båda huvudtyperna av egentliga äggviteämnen, och just deras olika förhållande under ifrågavarande reaktionsbetingelser utgör ju vårt viktigaste hjälpmedel såväl till deras karakterisering som till deras isolering från varandra ur lösningar, där de förefinnas gemensamt. Det uppställer sig naturligtvis då den frågan, huruvida denna skiljaktighet kan återfinnas även under de betingelser, som här är föremål för undersökning. För utrönande härav ha i särskilda försöksserier rent albumin och globulin prövats på sitt förhållande till sura elektrolytlösningar, dels med avseende på den för fällningen erforderliga syrekoncentrationen och i samband därmed den vid reaktionen ifråga rådande vätejonkoncentrationen. Dels har fällningsverkan av de olika anionerna på resp. proteiner undersökts. Försöksprotokollen återges som vanligt i tabellform. Vad först beträffar den inbördes storleken av på resp. äggvitesubstanser likverkande anionkoncentrationer, så ger undersökningen därutinnan vid handen, att även vid utfällning under här ifrågavarande betingelser globulinernas större fällningstendens tydligt framträder, men någon skiljaktighet av samma utpräglade grad som vid neutralsaltsfällning föreligger som

synes icke. Vid sur reaktion är fastmera skiljaktigheten rätt så obetydlig, och resp. äggviteämnens fällningsområden gripa så avsevärt över i varandra, att deras skiljande från varandra, när de förefinnas i blandning, icke torde vara möjligt med denna fällningsmetod. De tidigare återgivna försöken med nativserum ha ju icke heller visat någon diskontinuitet ifråga om fällningsförloppet, som borde ha varit märkbar vid en mera markerad skiljaktighet i fråga om de båda ingående äggviteämnenas fällningsbetingelser.

Vad därnäst beträffar den vid partiell resp. nätt och jämnt komplett fällning av äggviteämnena rådande vätejonkoncentrationen, så kan med den av mig använda försökstekniken en om ock obetydlig skillnad fastställas mellan de båda äggviteslagen. Globulinfällningen synes nämligen äga rum vid en något högre aciditetsgrad än motsvarande reaktion med albuminlösning. Denna om ock ringa skiljaktighet synes mig emellertid värd att observeras. Såsom i annat sammanhang visats, utgöras de fällningar, som här undersökta anioner bilda med äggviteämnen vid sur reaktion, av saltartade föreningar mellan proteinsubstansen och den fällande anionen. Av de omfattande undersökningar som ROBERTSON ägnat ifrågavarande slag av föreningar har framgått, att äggviteämnena i joniserat tillstånd — och detta såväl ifråga om deras roll av kationer som anioner — i eminent grad förete karaktären av flervärdiga elektrolyter, ävensom att de olika affiniteterna visa en etappliknande dissociation. Det vill med andra ord säga — för att nu hålla oss till den basliknande dissociationen — att antalet avdissocierade hydroxyljoner per äggvitemolekyl står i direkt relation till den i lösningen rådande aciditeten. Att äggvitefällningen vid sur reaktion, d. v. s. bildandet av olösliga anionför-

eningar, äger rum vid en konstant vätejonkoncentration bör enligt mitt förmenande tolkas sålunda, att bildandet av den olösliga produkten förutsätter inträde av ett visst minimiantal fällande anioner till varje äggvitemolekyl. Den vid fällningen rådande vätejonkoncentrationen skulle alltså vara att betrakta som den aciditetsgrad, vid vilken det krävda antalet valenser trätt i reaktion.

Ett experiment, som direkt stöder denna uppfattning om arten av vätejonkoncentrationens verkan på fällningsförloppet är följande. Elektrolytfritt globulin, som är olösligt i vatten, kan bringas i lösning med svaga ($<0{,}01$ n) lösningar av salpetersyra och rodanvätesyra. Då denna lösningsbefordrande verkan av små syrekoncentrationer på elektrolytfritt globulin är att betrakta som en saltbildning, framgår av den anförda iakttagelsen, att även de starkt lyofoba anionerna bilda lösliga äggvitesalter, när vid lägre aciditetsgrad endast ett mindre antal av äggvitemolekylens syrebildande valenser träda i funktion.

FÄLLNINGSREAKTIONENS REVERSIBILITET.

Ifråga om fällningsreaktioner, eller såsom den gängse termen i den kolloidkemiska litteraturen lyder, utflockningsfenomen i kolloida system upprätthålles en principiell skillnad mellan reversibla och irreversibla processer. Icke minst förändringar i fråga om äggvitelösningars aggregationstillstånd lämna prov på dessa båda olika former. Till de typiskt reversibla processerna hör i första rummet neutralsaltfällningen. Bland de irreversibla förändringarna märkas utfällning med tunga metallsalter, värmekoagulation m. m. En mellanform

visar äggvitelösningars utfällning med alkohol. Därvid förbliver nämligen fällningsprodukten en tid efter utfällningen upplöslig vid överförande i lämpligt medium. Om emellertid alkoholverkan utsträckes över en något längre tidrymd, inträda sådana förändringar inom den utfällda produkten, att densamma icke vidare kan överföras i löst form utan djupgående sönderdelning av substansen. Utfällningen har sålunda övergått till en irreversibel form.

Beträffande de fällningsprodukter, som bildas vid äggvitelösningars elektrolytfällning vid sur reaktion, har av PAULI (1903) angivits, att de av dessa som bildas vid låg aciditetsgrad skulle vara lösliga, men fr. o. m. en syrekonc. av omkr. $0{,}03$ n skulle den bildade fällningen vara irreversibelt olöslig.

Som en del iakttagelser under de förut anförda försöken läto förmoda, att flera faktorer voro medverkande ifråga om fällningsproduktens ifrågavarande karaktär, har jag underkastat denna sida av reaktionsprocessen en närmare analys.

För fällningarnas prövning i berörda hänseende har förfarits så, att desamma avcentrifugerats från fällningsmediet, varpå den avsatta fällningen skilts från lösningen samt uppslammats i vatten, i en del fall med tillsats av små mängder koksalt eller sekundärt natriumfosfat efter omständigheterna. I de fall där fällningen gått i lösning har äggvitekomponentens intakthet fastställts genom prövning av dess förhållande vid värmekoagulation och utsaltning med neutralt ammoniumsulfat.

Av mina undersökningar härutinnan har framgått, att reversibiliteten är beroende dels av den tid, fällningen fått förbliva i det medium, vari den uppstått, dels av dettas vätejonkoncentration samt slutligen av arten av den fällande

anionen. Med hänsyn till tidsmomentets betydelse, kan denna fällningstyp, synes det mig, närmast jämställas med fällningen med alkohol. Den först bildade produkten kan nästan alltid visas vara återupplöslig, om den överföres i tjänligt medium, och först en senare omlagring inom densamma gör den irreversibelt olöslig. Med hänsyn till storleken av denna tidsfaktor, utöva de båda andra anförda faktorerna ett betydande inflytande. Det har sålunda visat sig, att den tid, varunder fällningsprodukten förblir återlöslig, är väsentligt beroende av aciditetsgraden hos fällningsmediet, ävensom av den fällande jonens art. Under i övrigt likartade förhållanden inträder irreversibiliteten snabbare, ju större vätejonkoncentrationen är hos den fällningen omgivande vätskan. Vid lika aciditetsgrad inträder den definitiva olösligheten fortare alltefter graden av den fällande jonens lyofoba natur. Sålunda hava fällningar med nitrat och bromid behållit sin reversibilitet ett dygn och mera, då fällningen skett vid tillräckligt ringa syregrad. Ifråga om de starkast fällande anionerna, rodanid och jodid, är den tid som åtgår för fällningens avcentrifugering tillräcklig, för att densamma skall bli olöslig, och endast genom en omedelbart i anslutning till utfällningen vidtagen utspädning, eventuellt i förening med avtrubbning av aciditeten, kan det i dessa fall lyckas att ånyo bringa den utfällda äggvitan i lösning i till synes odenaturerat skick. Orsaken till denna fällningarnas övergång från reversibelt till irreversibelt tillstånd vill man, som bekant, numera se i en fortgående dehydratation av äggvitemolekylen. Det kan därvid ha sitt intresse att bringa i åtanke det tidigare omnämnda förloppet av fällningsproduktens bildande under vissa försöksbetingelser. Jag har tidigare redogjort för hurusom en första fas av ut-

fällningen ter sig som en äggvitelösningens övergång från hydrokolloid till suspensionskolloid. Mellan dessa båda lösningsformer anses ju numera den väsentliga skillnaden bestå i den hydrofila kolloidens vittgående hydratation i motsats till suspensionskolloidernas indifferentism gentemot dispersionsmedlet. Man skulle därför ifråga om denna form av elektrolytverkan måhända kunna tillåta sig den formuleringen, att de lyofoba jonerna överföra denna sin karaktär på den bildade produkten. Att den högre syregraden påskyndar irreversibilitetens inträde, kan vid sådant förhållande sättas i samband därmed, att den högre aciditeten öppnar ett större antal valenser i äggvitekärnan, varigenom antalet av anionernas angreppspunkter ökas.

TAB. XXII.

Verkan av olika anioner på konsistensen av ½-procentig lösning av isoelektriskt gelatin (pH = 4,7).

Konc.	J	Br	Cl	NO_3	SO_4	HPO_4
0	halvfast gel.					
0,025 n	¾ f gel.	¾ f gel.	¾ f gel.	¾ f gel.	¾ f gel.	¾ f gel.
0,05 »	¾ f	¾ f	¾ f »	¾ f	1 f »	¾ f
0,1 »	¾ f	¾ f	¾ f	¾ f	1 f	1 f.
0,2 »	¼ f	½ f	¾ f	½ f	1 f	1 f
0,4 »	flyt	¼ f	½ f	¼ f	1 f	börj. utf.
0,8 »	»	flyt	½ f	flyt	utfälln.	utfälln.
1,6 »	»	»	¼ f	»		
2,7 »			flyt			
3 »				»		

Att lyofoba joner genom sin bindning till hydrofila proteinämnen meddela dessa sin hydrofoba karaktär, kan enligt mitt förmenande konstateras även av ifrågavarande radikalers likvefierande verkan på gelatinlösningarna. Ehuru jag i övrigt icke ingår på elektrolytverkan på denna proteinsub-

stans, anför jag dock för jämförelses skull resultaten från en dylik försöksserie. Försöken äro utförda med gelatin, som genom tvättning med först svagt saltsyrehaltigt vatten och därpå med destillerat vatten, så vitt möjligt befriats från askbeståndsdelar. Till en halvprocentig lösning av detta renade gelatin har tillsatts saltsyra till den mot gelatinets isoelektriska punkt svarande vätejonkoncentrationen, nämligen pH=4,7. Efter tillsats av de angivna neutralsalterna förvarades proven 12 timmar i islåda, varefter gelatineringsgraden uppskattades. Av resultaten framgår, liksom av motsvarande försök av HOFMEISTER, LOEB, o. a., att större koncentrationer av de lyofoba anionerna förhindra gelatineringen. Den tolkning jag givit ifrågavarande fenomen är följande: Även i detta fall inträder en förening mellan gelatinmolekylen och den tillförda anionen. Där den senare har en hydrofil tendens ökas gelatinsaltets hydratationsgrad, vilket yttrar sig under formen av förstärkt gelatinering. I de fall åter, där den ingående anionen är av lyofob natur, verkar den dehydrerande på gelatinet och därav följer att lösningen förbliver tunnflytande, så snart den ifrågavarande anionen förefinnes i erforderlig koncentration. Ehuru reaktionsprodukten i detta fall förbliver i lösning, anser jag dock befogat att i denna verkan på gelatinlösningar se en parallellföreteelse till den ovan beskrivna irreversibla äggvitefällningen.

FÄLLNINGSPRODUKTENS NATUR OCH SAMMANSÄTTNING.

Redan inledningsvis gav jag uttryck åt en förmodan, att den fällningsprodukt som bildades vid elektrolytfällning av

äggvitelösningar vid sur reaktion med all sannolikhet utgöres av en saltartad förening mellan proteinsubstansen och elektrolytens anion. Denna förmodan grundade sig på den iakttagelsen att anionernas fällande verkan stod i direkt relation till deras lyofoba egenskaper. Hur högt man än vill skatta sannolikhetsgraden av ett dylikt antagande, kvarstår likvisst, att först det analytiska påvisandet av den ifrågavarande anionen som en beståndsdel i fällningsprodukten kan anses innebära det avgörande beviset för det gjorda antagandet. Jag har också betraktat det som en huvuduppgift i den föreliggande undersökningen att söka utröna fällningsproduktens sammansättning. Detta har emellertid mött avsevärda experimentella svårigheter. Visserligen rör det sig om utfällda produkter, och en analys av dessa borde, synes det, vara en relativt enkel uppgift. Men förhållandena kompliceras därav att fällningens sammansättning uppenbarligen är betingad av ett rådande jämviktstillstånd med den lösta fas, vari den bildats, och vid varje försök att genom uttvättning eller dylikt avlägsna lösliga föroreningar måste man räkna med en rubbning av ifrågavarande jämviktstillstånd med därav följande ändrad sammansättning även på fällningsprodukten. Icke ens den omständigheten, att utfällningen under vissa förhållanden blir irreversibel, lämnar någon garanti eller ens sannolikhet för, att försök till uttvättning skulle lämna dess sammansättning oförändrad. Det har därvid synts mig, att endast en indirekt analys skulle kunna leda till en tillförlitlig kännedom om fällningsprodukternas sammansättning. Vid försök i denna riktning utgick jag från det visserligen icke slutgiltigt styrkta antagandet, att någon metallisk kation icke ingår i den utfällda produkten. För ett dylikt antagande föreligga dock så starka

sannolikhetsskäl, att eventualiteten av ett fel därvidlag måste sättas synnerligen lågt. Följande försöksanordning hoppades jag skulle giva säkra hållpunkter för bedömande av fällningens sammansättning. En noga avmätt, ren äggvitelösning av känd styrka försattes i ett tarerat centrifugrör med inslipad propp med en blandning av neutralsalt och motsvarande syra i sådan myckenhet och sådana proportioner, att en fullständig utfällning av äggvitelösningen ägde rum, men med undvikande av onödigt stort överskott av reagensen. Efter lämpligt tidsförlopp avcentrifugerades fällningen hårt, det klara centrifugatet avhälldes, och den i centrifugröret kvarvarande fällningen lämnades att avrinna så fullständigt som möjligt under noggrant skydd mot avdunstning och med aktgivande på, att ingen del av fällningen förlorades. Centrifugröret jämte innehåll återvägdes, och fällningens vikt noterades. Centrifugatets halt av resp. kation och anion bestämdes med så stor noggrannhet som möjligt. Bestämningen av fällningens elektrolyter måste föregås av dessas skiljande från äggvitan, varom närmare här nedan. Den därvid erhållna lösningens halt av resp. neutralsalts-beståndsdelar bestämdes på enahanda sätt. Den från fällningen utlösta mängden kation avsågs lämna ett mått på mängden mekaniskt kvarhållen moderlut, och för den häremot svarande anionkvantiteten skulle avdrag göras. Överskjutande anionmängd vore givetvis att betrakta som en integrerande beståndsdel av den bildade proteinfällningen.

För dessa kvantitativa undersökningar valdes sådana radikaler, som väntades lämna säkraste garanti för exakta analysresultat. Till undersökning ha kommit kombinationerna bariumrodanid + rodanvätesyra samt kaliumjodid + jodvätesyra. Bestämningarna ha gjorts volumetriskt. Barium

har fällts i form av kromat ur svagt ättiksur lösning. Kromatet har därefter bestämts volumetriskt på vanligt sätt efter lösning i jodkalium och saltsyra. Rodaniden har isolerats genom utskakning med amylalkohol ur starkt svavelsur lösning och rodanhalten i amylalkohollösningen har bestämts kolorimetriskt efter tillsats av sprithaltig järnkloridlösning i ringa överskott. Anställda försök med rodanidlösningar av känd halt ha givit mycket goda resultat med detta förfaringssätt. Kalium har fällts i form av kaliumnatrium-kobaltinitrit, vars mängd därefter bestämts genom titrering med permanganat enligt det av ADIE och WOOD angivna förfaringssättet. Jodiden har slutligen för kvantitativt bestämmande överförts i jodat medelst alkalisk permanganatlösning. Det bildade jodatet har bestämts jodimetriskt på vanligt sätt, sedan permanganatöverskottet fällts genom uppvärmning med några droppar sprit, och mangansuperoxidfällningen avfiltrerats och urtvättats. Halten av resp. kationer och anioner i lösningen efter äggvitans fullständiga utfällande och fällningens avcentrifugering har bestämts direkt, och ha analysresultaten från parallellförsök visat tillfredsställande överensstämmelse. För att bestämma de fällningen åtföljande jonerna — vare sig kemiskt bundna eller mekaniskt vidhängande med moderluten — försöktes att uttvätta desamma ur äggvitefällningen med utspädd (0.1 normal) svavelsyra. Trots upprepade försök ha tillfredsställande resultat därvid icke ernåtts. Dels visade parallellbestämmelser större skiljaktighet än analysmetodernas fellatitud, dels understeg summan av de ur lösningen och motsvarande äggvitefällning återfunna oorganiska radikalerna de tillförda mängderna, utvisande en växlande och i en del fall avsevärd förlust av de sökta

beståndsdelarna, särskilt anionerna. Det var härav uppenbart, att ett fullständigt återvinnande av elektrolytbeståndsdelarna ur äggvitefällningen icke kunde ernås genom detta enkla förfaringssätt, och försök att ersätta svavelsyran som extraktionsmedel med salpetersyra medförde icke avsevärt bättre resultat. Jag har därför avstått från försöken att på denna väg direkt fastställa sammansättningen av de bildade fällningsprodukterna. Dock ha de gjorda analyserna icke varit helt värdelösa med hänsyn till den gjorda problemställningen. Ty redan analyserna av lösningarna enbart, vilkas tillförlitlighet synes god, ha givit vid handen, att den inbördes relationen mellan anion och kation vid jämförelse med den ursprungliga reagenslösningen förskjutits därhän, att den relativa mängden anion minskats.

Härigenom synes mig på ett fullt bindande sätt ådagalagt att äggvitans utfällning ägt rum under bindande av den fällande anionen. De till grund härför liggande analysresultaten bifogas.

5 cm³ albuminlösning: 0,84 % prot—N[1]
5 » rodanidlösning: 0,8 n SCN; 0,6 n Ba
centrifugeras efter 2 tim.
Centrifugatets halt av Ba: 0,32 n
» » » SCN: 0,37 n

---

5 cm³ albuminlösning
5 » jodidlösning 1 n J; 0,75 n K.
Centrifugatets halt av K: 0,38 n
» » » J: 0,47 »

[1] Bestämd genom koagulering i värme, noggrann uttvättning och förbränning enl. Kjeldahl.

5 cm³ globulinlösning: 0,508 % prot—N[1]
5 » rodanid lösning: 0,8 n SCN 0,6 n Ba
Centrifugatets halt av Ba: 0,3 n
» » » SCN: 0,37 n

---

5 cm globulinlösning.
5 » jodidlösning 1 n J: 0,75 n K.
Centrifugatets halt av K: 0,37 n
» » » J: 0,46 »

Under arbetet med dessa ganska motiga försök blev det mig klart, ett fällningens natur av en förening mellan äggvitesubstansen och den fällande anionen, ävensom dessas inbördes mängdförhållanden i reaktionsprodukten borde kunna fastställas på ett vida enklare sätt, nämligen genom bestämning av den i samband med utfällningen försiggående bindningen av fria vätejoner. Det har ju redan länge gällt som det mest avgörande beviset för äggviteämnenas saltbildande förmåga, att de verka nedsättande på vätejon- och hydroxyljonkoncentrationen i sura resp. alkaliska vätskor. Då reaktionsprodukterna emellertid i regel förblivit i lösning har desammas olika hydrolysgrad verkat avtrubbande på reaktionskurvan, om förloppet tänkes grafiskt återgivet. Men i här föreliggande fall där den bildade produkten utfaller i olöst form, borde man kunna vänta en mera ostörd bild av det kvantitativa reaktionsförloppet. Att så är fallet skulle i själva verket ha kunnat utläsas av de tidigare försöksserierna, återgivna i tabellerna III, IV, XXI. Dessa utvisade, som redan i det föregående diskuterats,

[1] Bestämd genom kongulering i värme, noggrann uttvättning och förbränning enl. Kjeldahl.

att så länge äggviteutfällningen var partiell, den däröver stående lösningens vätejonkoncentration förblev konstant, oberoende av mängden tillsatt syra. Den bindning av fria vätejoner, som sålunda konstaterades äga rum därvid, kan endast förklaras genom antagandet av en saltbildning mellan äggvitan och den negativa elektrolytradikalen. De ytterligare försök, som jag härefter anställt för att följa den ifrågavarande reaktionen kvantitativt ur just denna synpunkt, giva en överskådlig bild av det i själva verket mycket enkla reaktionsförloppet. Därvid har förfarits på följande sätt: Rena äggvitelösningar, vilkas halt av proteinkväve direkt bestämts, ha försatts med en noga avmätt mängd 0,1 normal klorvätesyra. Därpå har den fällande anionen tillförts i form av neutralsalt. Fällningen har avcentrifugerats, och lösningens vätejonexponent bestämts. Som i dessa försök alltid använts överskott av den fällande anionen, har äggvitan utfällts fullständigt, och den kolorimetriska bestämningen av vätejonkoncentrationen i den helt äggvitefria lösningen torde under sådana förhållanden icke vara behäftad med något nämnvärt systematiskt fel. Den syremängd som åtgått för att bibringa den äggvitefria lösningen den funna vätejonkoncentrationen har bestämts i särskilda försök med saltlösningar av motsvarande sammansättning. Genom avdrag av detta belopp från den i huvudförsöket tillsatta syrekvantiteten erhålles direkt ett värde på den i samband med fällningsreaktionen bundna mängden vätejoner = mängden i äggvitefällningen bundna anioner. På detta sätt erhållas värden på den basiskt dissocierade äggvitans ekvivalentvikt — i mina försök uttryckt genom antalet kväveatomer pr ekvivalent bunden anion.

5 cm^3 albuminlösning: 0,84 % prot-N (=0,6 N-normal).
5 » 0,1 n HCl.
5 » n KSCN.
centrifugeras efter 2 tim.

Centrifugatets vätejonkoncentration pH=2.

5 cm^3 n KSCN + 5 cm^3 H_2O + 1,6 cm^2 0,1 n HCl + H_2O ad 15cm^3 : pH=2

Förbrukat: 3,4 cm^3 0,1 n HCl på 5 cm^3 0,6 N-normal albuminlösning.

1 milliekvivalent syra = 8,8 milliatomer prot-N.

---

5 cm^3 albuminlösning.
4 » 0,1 n HCl.
1 » H_2O.
5 » 2 n $NaNO_3$.

Centrifugatets vätejonkonc., pH=2,45.

5 cm^3 2n $NaNO_3$ + 6 cm^3 H_2O + 0,65 cm^3 0,1 n HCl + H_2O ad 15 cm^3: pH=2,45.

Förbrukat: 3,35 cm^3 0,1 n HCl på 5 cm^3 0,6 N-normal albuminlösning.

---

5 cm^3 globulinlösning: 0,508 % prot-N (=0,363 N-normal) + 0,01 n HCl.
5 cm^3 0,1 n HCl.
5 » 2n $NaNO^3$.

Centrifugatets vätejonkoncentration, pH=1,65

5 cm^3 2n $NaNO_3$ + 5 cm^3 H_2O + 3,4 cm^3 0,1 n HCl + H_2O ad 15 cm^3 : pH=1,65

Förbrukat: 2,1 cm^3 0,1 n HCl på 5 cm^3 0,363 N-normal globulinlösning.

5 cm³ globulinlösning.
3,5 » 0,1 HCl.
1,5 » H_2O.
5 » n KSCN.

Centrifugatets vätejonkoncentration pH = 1,95.

5 cm³ n KSCN + 6,5 cm³ H_2O + 1,8 cm³ 0,1 n HCl + H_2O ad 15 cm³ : pH = 1,95

Förbrukat: 2,2 cm³ 0,1 n HCl på 5 cm³ 0,363 N-normal globulinlösning.

1 milliekvivalent syra = 8,25 milliatomer prot-N.

Bestämningen av äggviteämnens ekvivalentvikter vid förening såväl med anioner som med kationer, föreligga som bekant, i stort antal, grundade på bestämningar av vitt skilda fysikaliska och fysikaliskt-kemiska karaktärer hos dylika föreningar. Vad som emellertid enligt mitt förmenande gör förhållandena särskilt enkla och överskådliga under här undersökta betingelser är, såsom redan tidigare anförts, den omständigheten, att en av de bildade produkterna, nämligen proteinsaltet, avskiljer sig i olöst form. Härav följer att reaktionsprocessen fortskrider till dess en av de reagerande komponenterna — vid mina försök äggvitekroppen — förbrukats, och man slipper ifrån det reversibla jämviktsläget med samtliga reagerande komponenter närvarande i mätbara koncentrationer.

EN VOLUMETRISK METOD FÖR BESTÄMNING AV ÄGGVITEHALT I LÖSNINGAR.

I de sist anförda försöken har bindningen av anioner vid utfällning av lösta proteinämnen följts kvantitativt genom bestämning av förbrukningen av fri syra vid fällningsreak-

tionen. Värdet på den förbrukade syrekvantiteten har därvid erhållits genom att från kvantiteten tillförd syra subtrahera den syremängd, som i parallellförsök visat sig erforderlig för åstadkommande av en vätejonkoncentration lika med den som rådde i lösningen efter äggvitans fullständiga utfällning. Just den omständigheten emellertid, att det medium, vars aciditet ingår som faktor i beräkningen, under tjänliga betingelser endast innehåller starkt dissocierade elektrolyter, medför, att lösningens aciditetsgrad kommer att utgöra ett direkt mått på det förefintliga syreöverskottet. Härav synes framgå att graden av äggvitans syrebindningsförmåga bör kunna bestämmas likaväl genom dennas utfällning med en lyofob anion vid närvaro av ett överskott syra, som sedan återtitreras. Och denna återtitrering bör kunna ske med stor precision, då lösningen, som titreras är helt fri från den buffert-artat verkande äggvitan. På detta sätt borde man kunna komma till en enkel alkalimetrisk bestämning av äggvitekroppar i lösning. Omvänt borde metoden vid känd proteinhalt kunna på enklast tänkbara sätt lämna ett mått på den föreliggande äggvitekroppens ekvivalentvikt vid det rådande dissociationstillståndet. De enligt denna plan utförda försöken ha till fullo bekräftat antagandet av enkelhet och tillförlitlighet hos den på dessa premisser grundade analysmetoden. Därvid har följande förfaringssätt använts:

Avmätta mängder av rena äggvitelösningar ha försatts med en noga avmätt kvantitet syra, vanligen klorvätesyra i säkert, dock icke allt för stort överskott. En likaledes exakt avmätt volym av en lösning av den fällande anionen i form av neutralsalt (natriumnitrat eller rodankalium) har därefter tillsatts. Även därvidlag är det naturligtvis av

vikt att reagenset förefinnes i säkert överskott. Efter noggrann omblandning har vätskan fått stå en halvtimme till en timme för att omsättningen med säkerhet skall bliva fullständig. Vätskan har därpå genom centrifugering befriats från fällningen, och en alikvot del av det klara centrifugatet har återtitrerats med en svagare (i mina försök $^1/_{50}$ normalt) alkali med metylrött som indikator.

5 cm³ albuminlösning: 0,84 % prot-N
5 » 0,1 n HCl
5 » 2 n $NaNO_3$
10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 5,4 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm³ albuminlösning har bundit 16,9 cm³ $\frac{n}{50}$ syra.

---

5 cm³ albuminlösning
5 » 1,05 × $\frac{n}{5}$ HCl
5 » 2 n $NaNO_3$
10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 23,85 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm³ albuminlösning har bundit 16,7 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

---

5 cm³ albuminlösning
5 » 2 n $NaNO_3$ blandas, varpå tillsättes
5 » 0,1 n HCl

10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 5,4 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm³ albuminlösning har bundit 16,9 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

---

5 cm³ $\frac{n}{10}$ HNO_3 + 5 cm³ 2 n $NaNO_3$

5 » albuminlösning

10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 5,5 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm³ albuminlösning har bundit 16,75 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

---

5 cm³ albuminlösning

5 » 0,1 n HCl

5 » n KSCN

10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 5,35 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm³ albuminlösning har bundit 17 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

2,5 cm³ albuminlösning

2,5 » H_2O

5 » 0,1 n HCl

5 » n KSCN

10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 11.1 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

2,5 cm³ albuminlösning har bundit 8,35 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

(5 cm³ 16,7 » » »)

---

5 cm^3 albuminlösning (: 0,84 % prot-N) binder i medeltal 16,82 cm^3 $\frac{n}{50}$ syra

1 syreekv. bindes pr 8,8 atomer N.

Med en beräknad N-halt av 16 % fås serumalbuminets ekvivalentvikt vid här ifrågavarande dissociationsgrad = 770

---

5 cm^3 globulinlösning : 0,508 % prot-N; 0,01 n HCl

5 » 0,1 n HCl

5 » 2 n $NaNO_3$

10 cm^3 av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 11 cm^3 $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm^3 globulinlösning har bundit 11 cm^3 $\frac{n}{50}$ syra

---

5 cm^3 globulinlösning

5 » 1,05 × $\frac{n}{5}$ HCl

5 » 2 n $NaNO_3$

5 cm^3 av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 14,7 cm^3 $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm^3 globulin har bundit 10,9 cm^3 $\frac{n}{50}$ syra

---

5 cm^3 globulinlösning

5 » 0,1 n HCl

5 » n KSCN

5 cm^3 av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 5,5 cm^3 $\frac{n}{50}$ KOH

5 cm³ globulinlösning har bundit 11 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

2,5 cm³ globulinlösning
2,5 » H_2O
5 » 0,1 n HCl
5 » n KSCN
10 cm³ av centrifugatet förbrukar vid återtitrering 13,85 cm³ $\frac{n}{50}$ KOH

2,5 cm³ globulinlösning har bundit 5,5 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

5 cm³ globulinlösning (: 0,508 % prot-N) binder i medeltal 11 cm³ $\frac{n}{50}$ syra

1 syreekv. bindes pr 8,25 atomer N

Med 16 %:s beräknad N-halt fås serumglobulinets ekvivalentvikt vid ifrågavarande dissociationsgrad = 722.

Som av de anförda analysprotokollen framgår, har metoden under dessa betingelser karaktären av en verklig precisionsmetod. För resultaten synes det icke vara av någon betydelse om neutralsaltlösningen sättes till den undersökta vätskan före syretillsatsen, ej heller om äggvitelösningen direkt blandas med den i förväg surgjorda saltlösningen. Slutligen synes det vara utan inflytande, om klorjoner finnas närvarande i de små mängder, som kunna ifrågakomma på grund av undersökningsobjektets eventuella kloridhalt eller av att saltsyra använts som titrervätska. Då jag fått det intrycket, att resultaten utfalla jämnast, när syretillsatsen sker först under det äggvitan ännu förbliver i lösning, torde den ovan anförda ordnings-

följden i fråga om reagenstillsatsen användas som normalförfarande.

Det har synts mig uppenbart, att denna enkla och, av allt att döma, synnerligen tillförlitliga metod för äggvitebestämning bör kunna bliva av värde, som en praktisk-klinisk undersökningsmetod. Äggviteämnenas relativt höga ekvivalentvikter synas därvidlag icke utgöra något hinder för den praktiska användbarheten, då skärpan i omslaget vid sluttitreringen mycket väl tillåter ett arbete med starkt utspädda titrervätskor. En förutsättning härför är emellertid, att undersökningsobjektet vid titreringens utförande icke innehåller andra svaga elektrolyter än den fällbara äggvitan, då dessa skulle kvarbliva i lösningen och förhindra ett skarpt omslag. Då emellertid dylika buffertsubstanser endast sällan saknas i de undersökningsobjekt, som närmast äro att räkna med vid en praktisk-klinisk tillämpning, så torde det för metodens anpassning för ifrågavarande ändamål vara ett ofrånkomligt villkor att dessa hinderliga beståndsdelar avlägsnas eller i annan form oskadliggöras. Härpå syftande undersökningar har jag f. n. under arbete, och hoppas jag inom kort vara i tillfälle framlägga en äggvitebestämningsmetod för praktiskt kliniskt bruk.

* *
*

Vid dryftandet av arten av de föreningar, som bildas mellan proteinämnen och enkla anioner, har jag helt ställt mig på den av ROBERTSON och LOEB förfäktade ståndpunkten, att omsättningen sker efter enkla stökiometriska lagar, principiellt efter samma norm som saltbildning i allmänhet. Mina undersökningsresultat kunna måhända även utgöra

en exemplifiering av denna enkla lagbundenhet. Men jag har under dessa mina studier icke kunnat undgå att taga ståndpunkt till de slutsatser rörande det »kolloidala tillståndet» i allmänhet, som de nämnda amerikanska forskarna och särskilt LOEB velat draga ur sina iakttagelser över bildningen av proteinsalter. Att äggviteämnen trots deras komplicerade byggnad och den kolloidala beskaffenheten hos deras lösningar, visa så enkla och konstanta reaktionsförhållanden, är enligt mitt förmenande att anse som en följd av, att dessa ämnen trots deras kolloida natur, uppträda eller i varje fall kunna förefinnas i molekulär dispersionsgrad.

För det kolloidkemiska betraktelsesättet är det i första rummet det dispersa tillståndet, som karakteriserar de kolloida systemen. Det är från denna synpunkt utan betydelse om den dispersa fasens partiklar (miceller) utgöras av enkla molekyler av stora dimensioner eller av molekylaggregat. Vad som är utmärkande för äggvitelösningar till skillnad från andra slag av kolloidsystem är väl just deras natur av på en gång kolloida och molekulardispersa. Vid reaktioner i sådana system där micellerna utgöras av molekylaggregat kan det givetvis icke längre vara tal om enkla molekulär- eller ekvivalentförhållanden mellan de reagerande komponenterna. Det blir här ytutvecklingen, som blir bestämmande för det kvantitativa reaktionsförloppet, och varken ROBERTSON eller LOEB har kunnat giva en antagligare formel för elektrolyters bindning i sådana system än den av dem bekämpade teorien om adsorptionsverkan. Det torde väl snarast få anses som bevis för allmängiltigheten av denna teori, att den otvunget kunnat bringas att omfatta även elektrolytbindningen vid äggvite-

molekylerna, vilket senare fenomen sålunda bildar en förmedlande länk mellan den enkla molekularkemien och den tillsynes så helt väsensskilda dispersions- eller kapillarkemien.

När LOEB vidare i uppträdande av Donnan-effekten vill se det för kolloida system gemensamma och karakteristiska, och det enda, som skapar skiljegräns mot den kristalloida formen av materien, så visar han sig, enligt mitt förmenande, även därutinnan alltför ensidig. Det har likvisst synts mig, som om LOEB med denna formulering berört ett par väsentliga karaktärer hos det vi benämna det kolloida tillståndet, nämligen dels i och med framhållandet av joniseringen, alltså den elektrolytiska dissociationen, som en konstant egenskap hos hithörande system, dels ock i betonandet av den relativa ofriheten hos jonernas rörelsemöjligheter. Men att betrakta denna inskränkta rörelsefrihet som betingad av en membranverkan från hypotetiska ytskikt, har förefallit mig vara en obestyrkt och onödig konstruktion. Med bortseende från denna skulle man kunna definiera kolloider såsom elektrolytiskt dissocierade system, vari en eller flera joner hava en så stor massa, att de på densamma verkande krafterna och i första rummet trögheten väsentligen göra sig gällande vid sidan av de elektrodynamiska krafterna.

SAMMANFATTNING.

De välbekanta reaktionerna på i lösning befintlig äggvita med en del enkla syror, har underkastats en närmare analys. Därvid har dels vätejonen dels anionerna var för sig undersökts med hänsyn till sitt inflytande på fällningsreak-

tionen. I fråga om vätejonens roll har konstaterats, att fällning äger rum vid en relativt låg vätejonkoncentration ävensom att så länge vätejoner icke finnas i överskott, fällninggraden står i direkt relation till mängden av dessa, under det att mediet, vari fällningen sker, bibehåller en konstant aciditetsgrad. För blodserums äggvitekroppar har denna ett värde av pH omkring 3,6.

Den anionkoncentration, som kräves för fällningsreaktionen, är olika för de olika slagen anioner, och med hänsyn till verkningsgraden låta anionerna ordna sig efter den omvända HOFMEISTER'ska serien, så att fällningsförmågan är starkare uttalad ju mera utpräglat lyofob den fällande anionen är. I jämförelse med de saltkoncentrationer, som krävas för äggvitefällning vid neutral reaktion, befinnas de vid sur lösning verksammaste anionerna reagera vid ojämförligt större utspädningsgrad, och bl. a. på grund härav hävdas den principiella olikheten mellan elektrolytfällning i surt och i neutralt resp. svagt alkaliskt medium. På basis av de gjorda iakttagelserna göres gällande, att anionen måste ingå som en konstitutiv beståndsdel i den bildade reaktionsprodukten vid fällning i sur lösning. I särskilda försöksserier fastställes, att närvaro av olika »neutralsalt»-kationer är utan inflytande på reaktionsförloppet, varemot större koncentrationer av hydrofila anioner verka modifierande på fällningsgraden. Denna verkan är dock icke kvantitativt särskilt betydande.

Serumalbuminets och serumglobulinets resp. förhållanden vid denna fällningsform ha studerats var för sig, därvid globulinets lättare fällbarhet kan konstateras, likväl utan att skillnaden blir så framträdande som vid samma äggviteämnens utsaltning vid neutral resp. svagt alkalisk reaktion.

Skillnaden är icke sådan, att de båda proteinerna kunna skiljas ur blandade lösningar genom elektrolytfällning vid sur reaktion.

Fällningsreaktionernas reversibilitet har undersökts, varvid befunnits, att kort tid efter det utfällningen ägt rum, fällningsprodukten ånyo kan lösas i indifferent medium, och att proteinsubstansen därvid synes vara ograverad. Men efter förloppet av en växlande tidrymd, särskilt snabbt vid fällning med de utpräglat lyofoba anionerna, blir fällningen irreversibel. Som sannolik orsak till den inträdande irreversibiliteten ifrågasättes en av de lyofoba anionerna framkallad, fortskridande dehydratation av den utfällda äggvitan. Till stöd för detta förmenande anföras jämförliga iakttagelser över motsvarande anioners verkan på gelatinlösningar.

Utförda kvantitativa analyser avse att lämna det direkta beviset för anionens övergång i fällningsprodukten.

En bestämning av den vid fällningsreaktionen försiggående bindningen av fria vätejoner visas kunna läggas till grund för en beräkning av äggviteämnenas ekvivalentvikter.

På samma fenomen har också baserats en titreringsmetod för bestämning av äggvitehalten i lösningar, vilken i rena äggvitelösningar befunnits äga god precision.

Avslutningsvis beröres äggviteämnenas ställning till kolloida system av annan art.

LITTERATUR.

Adie and Wood, Journ. Chem. Soc. 77 (1900) s. 1076 cit. efter Beckurts, *Die Methoden der Massanalyse.* Braunschweig 1913.

Bayliss, M. W., *Principles af general physiology.* London 1924.

Biltz, W., Ueber die gegenseitige Beeinflussung colloidal gelöster Stoffe. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 37 (04) s. 1115.

Chick, H., and Martin, C., The density and solution volume of some proteins. Biochem. Journ. 7 (13) s. 192.

—, The precipitation of egg-albumin by ammonium sulphate. A contribution to the theory of the »salting-out» of proteins. Ibid. 7 (13) s. 380.

Clark, M. W., *The determination of hydrogen ions.* Baltimore 1922.

Ehrenberg, R., Zur Lehre von der Gelatinequellung in wässerigen Lösungen. Bioch. Zeitschr. 53 (13) s. 356.

Freundlich, H. u. Seal A., Ueber einige Eigenschaffen des Rhodanions. Kolloid-Zeitschr. 11 (12) s. 257.

—, *Kapillarchemie.* Leipzig 1923.

Graham, F., Trans. Roy. Soc London, 151 (61) s. 183. cit. efter Robertson.

Grigg, W. C., Metaphosphorie acid, a delicate test for albumin in urine. British medical Journ. 1880 s. 809.

Grosstern, u. Fudakowsky, cit. enl. Kowalewsky. Zeitschr. f. anal. Chem. 24 (85) s. 555.

Hardy, W. B., On the structure of cell protoplasm. Journ. of Physiol. 24 (99) s. 158.

—, On the coagulation of proteids by electricity. Ibid. 24 (99) s. 288.

—, Colloidal solution. The globulin. Ibid. 33 (05) s. 251.

Heller, J. F., Ueber Erkennung des Albumins der Urate, der Knochenerde und einer eigenthümlichen Proteinverbindung im Harn. Arch. f. physiol. u. pathol. Chem. u. Mikrosk. 5 (52) s. 169.

Heynsius, A., Ueber die quantitative Bestimmung des Eiweisses in thierischen Flüssigkeiten. Arch. f. d. gesamt. Physiol. 10 (75) s. 239.

Hofmeister, Fr., Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Zweite Mitteilung. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 24 (87) s. 247.
—, —. Dritte Mitteilung. Ibid. 25 (88) s. 1.
—, —. Fünfte Mitteilung. Ibid. 27 (90) s. 393.
—, —. Sechste Mitteilung. Ibid. 28 (91) s. 210.

Hopkins, F. G., a. Pinkus, S. N., Observations on the crystallization of animal proteids. Journ. Physiol. 23 (98) s. 130.

Howe, P. E., The relative precipitating capacity of certain salts when applied to blood serum or plasma and the influence of the cation in the precipitation of proteins. Journ. biol. Chem. 57 (23) s. 241.

Höber, R., Zur Kenntniss der Neutralsalzwirkung. Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 11 (07) s. 35.

—, *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe.* Leipzig und Berlin 1914.

Jessen-Hansen, H., Darstellung und Untersuchung eines wohldefinierten Eiweisstoffes. Abderhalden's Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden Lfg 60 (22) s. 601.

Jordis, E., Ein neuer Dialysator. Zeitschr. f. Elektrochem. 8 (02) s. 677.

Lewith, S., Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Erste Mitteilung. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 24 (87) s. 1.

Liebermann, L., Ueber das Nuclein der Hefe und künstliche Darstellung eines Nucleins aus Eiweiss und Metaphosphorsäure. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 21 (88) s. 598.

Loeb, Jaques, *Proteins and the theory of colloidal behavior.* New York 1922.

Malfatti, H., Beitrage zur Kenntniss der Nucleine. Zeitschr. f. physiol. Chem. 16 (92) s. 69.

Mc Ilvaine, T. C., A buffer solution for colorimetric comparison. Journ. biol. Chem. 49 (21) s. 183.

Michaelis, L., Die elektrische Ladung des Serumalbumins und der Fermente. Bioch. Zeitschr. 19 (09) s. 181.

—, Zur Theorie des isoelektrischen Punktes. III. Ibid. 47 (12) s. 250.

Mylius, F., Die Eiweissreaction der Säuren. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 36 (03) s. 775.

Ollendorff, A., Nachweis von Eiweiss im Harn. Zeitschr. f. anal. Chem. 33 (94) s. 120.

Panum, P., Neue Beobachtungen über die eiweissartigen Körper. Virchows Arch. 4 (52) s. 428.

Pauli, W. und Rona, P., Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. Erste Mitteilung. Beitr. Z. chem. Phys. u. Path. 2 (02) s. 1.
—, —, Zweite Mitteilung. Ibid. 3 (02) s. 225.
—, —, Dritte Mitteilung. Ibid. 5 (03) s. 27.
—, —, Vierte Mitteilung. Ibid. 6 (05) s. 233.
—, —, Fünfte Mitteilung. Ibid. 7 (06) s. 531.
— und Samec, M., Über Löslichkeitsbeeinflussung von Elektrolyten durch Eiweisskörper I. Bioch. Zeitschr. 17 (09) s. 235.
— und Wagner, R., Die innere Reibung von Albuminlösungen Bioch, Zeitsch. 27 (10) s. 296.
— und Falek, O., Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide XIV. Ibid. 47 (12) s. 269.
Posternak, S., Sur les propriétés physiques de la micelle albuminoide, Ann. d. l'Inst. Pasteur 15 (01) s. 18.
Reiss, E., Der Brechungskoeffizient der Eiweisskörper des Blutserums. Beitr. z. Chem. Physiol. u. Pathol. 4 (03) s. 150.
—, Eine neue Methode der quantitativen Eiweissbestimmung. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 51 (03) s. 18.
Reye, W., Über Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens Strassburg 1898 cit. efter Abderhaldens Handb. d. bioch. Arbeitsmeth. B. II s. 362.
Roberts, Wm., On a new test for albumin in urine. The Lancet (82) II. s. 613.
—, Angesäuerte Kochsalzlösung als Reagens auf Eiweiss u. Pepton im Harn. Chem. Zentralbl. 14 (83) s. 424.
—, Angesäuerte Kochsalzlösung als Reagens auf Eiweiss im Harn. Zeitschr. f. anal. Chem. 22 (83) s. 628.
—, Nachweis von Eiweiss im Harn. Chem. Zentralbl. 16 (85) s. 412.
Robertson, Brailsford, T., *The physical chemistry of the proteins.* New York 1920.
Salkowski, E., Über ein Verfahren zur völligen Abscheidung des Eiweiss ohne Erhitzen. Zentralbl. f. d. med. Wissenschaft 18 (80) s. 689.
Schade, H., Über eine kolloidchemische Konstitutionstheorie des Wassers. Kolloidzeitschr. 7 (10) s. 26.
Schmidt, C. L. A., Changes in the H+ and OH+-concentration which take place in the formation of certain protein compounds. Journ. of Biol. Chem. 25 (16) s. 563.
Sjöqvist, J., Physiologisch-chemische Beobachtungen über die Salzsäure. Skand. Arch. f. Physiol. 5 (94) s. 299.

Sjöqvist, J., Berichtigungen und Zusätze zu meinem Aufsatz: Physiologisch- chemische Beobachtungen über die Salzsäure. Skand. Arch. f. Physiol. 6 (95) s. 255.
Sörensen, S. P. L., Proteinstudien. Zeitschr. f. physiol. Chem. 103 (18) s. 1.
—. Proteinstudien V. Ibid. 106 (19) s. 1.
Tammann, Über die Isomerie der Metaphosphate. Zeitschr. f. physik. Chem. 6 (90) s. 122.
Walepole, G. S., Chart presentation on recent work on indicators. Biochem. Journ. 5 (13) s. 260.
Zouchlos, C., Nachweis von Eiweiss im Harn. Zeitschr. f. anal. Chem. 29 (90) s. 380.